

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



**TESIS DOCTORAL**

**Liberación de Na y respuesta contráctil en el conducto  
deferente, modificación por fármacos adrenérgicos de acción  
presinaptica**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**María José Nieto Hernández**

DIRECTOR:

**Pedro Lorenzo Fernández**

**Madrid, 2015**

TP  
1984  
146

María José Nieto Hernández



\* 5 3 0 9 8 6 6 6 5 6 \*  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

x-53-044245-Y

LIBERACION DE NA Y RESPUESTA CONTRACTIL EN EL CONDUCTO DEFERENTE:  
MODIFICACION POR FARMACOS ADRENERGICOS DE ACCION PRESINAPTICA

Departamento de Bioquímica  
Facultad de Ciencias Químicas  
Universidad Complutense de Madrid  
1984



BIBLIOTECA

**Colección Tesis Doctorales. Nº 146/84**

© Maria José Nieto Hernández  
Edita e imprime la Editorial de la Universidad  
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía  
Noviciado, 3 Madrid-8  
Madrid, 1984  
Xerox 9200 XB 480  
Depósito Legal: M-19188-1984

MARIA JOSE NIETO HERNANDEZ

"LIBERACION DE NA Y RESPUESTA CONTRACTIL EN EL CONDUCTO DEFERENTE:  
MODIFICACION POR FARMACOS ADRENERGICOS DE ACCION PRESINAPTICA"

Director: Dr. PEDRO LORENZO FERNÁNDEZ  
PROFESOR AGREGADO NUMERARIO DE FARMACOLOGIA  
FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS  
DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA



**A mis padres**



AGRADECIMIENTOS:

Al Prof.Dr.D. Pedro Lorenzo Fernandez, Director de esta Tesis, por la gran ayuda y generosidad que me ha prestado en todo momento, haciendo posible la realización de este trabajo.

Al Prof.Dr.D. Angel Martin Munio, por haber aceptado gustosamente ser Ponente de esta Tesis y por sus acertados consejos para la realización y confección de la misma.

Al Dr.D. Juan Vicente Beneit Montesinos, cuya ayuda y orientación han sido fundamentales en todo momento.

A mis compañeras M<sup>a</sup> Teresa Pelacz y M<sup>a</sup> Luisa Vaello por su generosa ayuda en el trabajo experimental.

A M<sup>a</sup> Elena Vicente por el magnífico trabajo que ha realizado en el mecanografiado de este trabajo.

A mis compañeros del Departamento de Farmacología, de la Facultad de Medicina, que de una u otra manera me han prestado su colaboración.





## I N D I C E

### INTRODUCCION

1) <u>Receptores adrenérgicos alfa y beta</u>	1
I.- Concepto general de receptor.	1
II.- Evolución historica del concepto de receptores adrenérgicos alfa y beta.	1
III.- Clasificación de los receptores.	3
IV.- Naturaleza de la neurotransmisión y receptores adrenérgicos.	7
V.- Características generales de los alfa y beta adrenoceptores.	18
VI.- Receptores presinápticos y su papel en la regulación de la liberación de transmisores adrenérgicos.	24
1.- Receptores alfa-presinápticos.	26
2.- Receptores beta-presinápticos.	41
3.- Hipótesis de trabajo de participación de los adrenoceptores alfa y beta.	45
4.- Otros tipos de receptores.	47
2) <u>Conducto Deferente.</u>	50
I. Anatomia.	50
II. Anatomia de los órganos accesorios.	56
III. Funciones del conducto deferente.	58
IV. Neurotransmision en el conducto deferente.	61

JUSTIFICACION DEL TEMA.	68
MATERIAL Y METODOS.	71
1) <u>Materiales</u>	71
I. Animales de experimentación.	71
II. Fármacos utilizados.	71
III. Aparatos utilizados.	71
2) <u>Métodos</u>	73
I. Conducto deferente-estimulación eléctrica de campo.	73
II. Determinación de la liberación de $^3\text{H}$ -NA en el conducto deferente.	76
III. Estadística.	79
RESULTADOS.	81
DISCUSION.	138
CONCLUSIONES.	149
BIBLIOGRAFIA.	155

## INTRODUCCION



## 1) Receptores adrenérgicos alfa y beta.

### I. Concepto general de receptor.

Puede considerarse como receptor de un fármaco a cualquier macromolécula funcional componente del organismo.

La naturaleza de dichas macromoléculas puede ser múltiple, siendo en su mayor parte proteínas como es el caso de las enzimas de regulación del metabolismo, las proteínas involucradas en fenómenos de transporte o simplemente, las proteínas estructurales. Así mismo lo pueden ser los ácidos nucleicos, los carbohidratos, residuos de polisacáridos y glicoproteínas y los lípidos de las membranas.

Estos receptores al interactuar con los fármacos, lo hacen mediante cualquiera de los tipos de enlaces químicos conocidos: iónicos, covalentes, puentes de hidrógeno, dipolo-dipolo y de Van de Waals (BOWMAN et al. 1968). En la mayor parte de los casos, intervienen múltiples tipos de dichos enlaces, los cuales se forman entre los grupos reactivos del fármaco y las regiones complementarias de estos grupos, existentes en el receptor, y orientados apropiadamente (GOLDSTEIN et al. 1974).

### II. Evolución histórica del concepto de receptores adrenérgicos alfa y beta.

La idea de la función que podían representar los receptores surgió con LANGLEY en 1905, el cual fraguó el término "sus-

tancia receptiva" ó "receptor", para denominar el integrante del organismo con el cual se suponía que interaccionaba el agente químico ó fármaco, sugiriendo al mismo tiempo que las células efectoras tienen a su vez "sustancias receptivas" de carácter excitatorio o inhibitorio. Por otra parte, DALE (1906) estudiando las acciones de la adrenalina, pudo separar las acciones motoras de las inhibitorias, producidas por ellas, lo cual constituyó la primera evidencia de la existencia de dos tipos de "receptores" sensibles a la adrenalina. Continuando con el estudio de las acciones de la noradrenalina, se encontró evidencias de la selectividad de acción de los fármacos simpaticomiméticos, observando diferencias en la acción de la adrenalina y de la noradrenalina, postulando consiguientemente la existencia de diferentes tipos de receptores, que se corresponderían con los distintos tipos de catecolaminas (BARGER y DALE, 1910).

Pero el concepto de "receptor" no era un ente aislado, sino que como demostró OTTO LOEWI en 1921, formaba parte de un concepto más amplio, conocido como "transmisión química". Esta hipótesis la postuló mediante una experiencia considerada fundamental en Farmacología, y que resumidamente, consistía en transferir el fluido ventricular de un corazón de rana estimulado, a otro corazón de rana, no estimulado, observándose que los efectos del estímulo nervioso sobre el primer corazón, eran reproducidos por la actividad química de la solución que fluía en el segundo corazón.

Todo esto llevó a investigar que tipos de sustancias químicas se liberaban cuando se producía una estimulación nerviosa, observándose por ejemplo en el hígado, que bajo una estimula-

ción de los nervios hepáticos simpáticos, se liberaba una sustancia parecida a la adrenalina, que producía un incremento en la presión arterial y en la velocidad del corazón, pero que no dilataba la pupila (CANNON y URIDOL, 1921). Esta sustancia, en subsiguientes experiencias, fue determinada como el mediador químico que se liberaba por los impulsos nerviosos simpáticos en las uniones neuroefectoras, y que se denominó originalmente como "Simpatina", y aún más, se postuló la existencia de dos transmisores o mediadores químicos, simpáticos, que se denominaron como Simpatina E y Simpatina I (CANNON y ROSENBETH, 1933), pero que mas adelante fue identificada como la Noradrenalina por Von EULER en 1946.

Basándose en los datos ya existentes y en el examen sistemático de los efectos de la adrenalina, noradrenalina e isoproterenol sobre una gran variedad de tejidos AHLQUIST (1948), observó que el orden de potencia de estos compuestos dependía del órgano examinado. El análisis de los datos obtenidos le condujeron a proponer que las diferencias en las acciones de estas catecolaminas pudieran ser explicadas por la presencia de dos receptores distintos para dichos compuestos que denominó como alfa y beta.

### III. Clasificación de los receptores adrenérgicos.

La denominación propuesta por AHLQUIST se hizo general, por lo que para clasificar el tipo de localización existente en cualquier tejido, se hacía en base a la potencia relativa de las distintas catecolaminas. Los tejidos que respondían intensamente a la adrenalina y muy poco a la isoprenalina, se decía que poseían



principal o enteramente receptores alfa, mientras que los que respondían intensamente a la isoprenalina y menos a la noradrenalina se consideraba que tenían principalmente receptores beta.

Por tanto, se consideró que el receptor alfa sería la localización adrenoceptiva donde las catecolaminas producirían estimulación, y el receptor beta la localización donde producirían un efecto inhibitor.

Desde este momento se produjo un gran avance, sobre todo gracias al descubrimiento de los antagonistas de los adrenoceptores beta, siendo uno de los primeros la dicloroisoprenalina (POWELL y SLATER, 1958). A partir de aquí se fueron encontrando gran cantidad de bloqueantes alfa y beta, que a parte de utilizarse terapéuticamente, corroboraron la clasificación de Ahlquist de los receptores adrenérgicos, ya que por ejemplo, la fenoxibenzamina, producía un bloqueo selectivo de los efectos de impulsos nerviosos adrenérgicos en las localizaciones alfa, mientras que el propranolol producía un bloqueo beta adrenérgico.

Pero no quedó así la clasificación de los receptores adrenérgicos, ya que LANDS et al. (1967) presentaron evidencias que sugerían la existencia de unos subgrupos en los receptores beta. Se basaron en las diferencias en la sensibilidad de los receptores beta de los diferentes tipos de órganos a los estimulantes de dichos receptores, y a los agentes de bloqueo beta de variadas estructuras químicas. Consecuentemente, diferenciaron dos subtipos:  $\beta_1$  en el corazón y en el intestino delgado y  $\beta_2$  en los bronquios, lechos vasculares y útero.

Pero el concepto ya clásico de que los adrenoceptores be-

ta del miocárdio (tipo  $\beta_1$ ) eran homogéneos, se ha debilitado, ya que según lo propuesto por KAUMANN et al. (1978) hay más de una clase de beta-adrenoceptores que median los efectos cardíacos de los ligandos adrenérgicos. También se ha demostrado la heterogeneidad de los receptores beta en el útero, ya que aunque son predominantes los  $\beta_2$  también existen los  $\beta_1$  (JOHANSSON et al. 1980).

En un principio, se creía que los receptores adrenérgicos existían solo a nivel de localización postsináptica, pero PATON y VIZI (1969) sugirieron que podría existir una especie de inhibición presináptica mediada por receptores alfa. Efectivamente, LANGER (1970) dió origen a la hipótesis de una regulación presináptica de la liberación de noradrenalina a través de un mecanismo de feedback negativo, mediado por receptores adrenérgicos alfa.

Se confirmó que los receptores alfa, pre y postsinápticos no tenían por que ser idénticos, llamándose  $\alpha_1$  al receptor alfa postsináptico que media la respuesta del órgano efector, y  $\alpha_2$  al receptor alfa presináptico, que regula la liberación del transmisor (DUBOCOVICH y LANGER, 1974; LANGER, 1974; DREW, 1977; LANGER, 1977; STARKE et al. 1975a,b; STARKE, 1977).

Pero esta clasificación de los  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$ , no obedece a los mismos conceptos para otros autores, ya que WIKBERG (1978a) propuso que los receptores alfa adrenérgicos se clasificaran de acuerdo a la potencia relativa de la fenilefrina y la clonidina. Así, cuando la potencia de la fenilefrina sea mayor que la de la clonidina, los receptores se denominaran  $\alpha_1$ , y cuando la potencia de la clonidina sea mayor que la de la fenilefrina, los receptores se denominaran  $\alpha_2$ . Esta clasificación se basa en los da-

tos acumulados en una gran variedad de sistemas por BERTHELSEN y PETTINGER (1977).

Recientemente, se ha demostrado que los receptores alfa - postsinápticos que inhiben la lipólisis en los adipocitos humanos, son de naturaleza alfa<sub>2</sub>, lo cual se ha podido confirmar usando la técnica de marcaje de la localización adrenoeptora por medio de (<sup>3</sup>H)-Clonidina (TANAKA y STARKE, 1979), la cual se enclaba en la localización presináptica adrenérgica alfa<sub>2</sub> (TANAKA y STARKE, 1980). Estos encuentros en adipocitos humanos han conducido al modelo de adrneoeptores alfa<sub>2</sub> postsinápticos (BERLAN y LAFONTAN, 1980).

Pero esto no es un hecho aislado, ya que también RUFFOLO et al. (1980) han demostrado que los receptores alfa adrenérgicos postsinápticos de aorta de rata, tienen naturaleza de tipo alfa<sub>2</sub>, basándose para ello en la afinidad del receptor por la Clonidina.

También se ha postulado la existencia de un mecanismo de re-alimentación positivo, mediado por receptores adrenérgicos beta, para la liberación de noradrenalina (LANGER et al. 1974; ADLER et al. 1975; LANGER et al. 1975a; STJARNE, 1975; LANGER, 1976; STJARNE, 1976a).

Volviendo a los receptores postsinápticos, ultimamente se ha comprobado que dentro de los receptores alfa postsinápticos, existen diferentes subtipos. Esto se sospechaba desde hacia algún tiempo, ya que SHEYS y GREEN (1972) observaron algunas diferencias significativas trabajando con aorta y bazo de conejo y BERKER et al. (1977) llegaron a clasificar los receptores alfa postsinápticos en una gran variedad de tejidos de varias especies de roedores,

en tres categorías diferentes, basándose en la actividad isomérica de la norepinefrina. RUFFOLO et al. (1980) establecieron una clasificación basada en la afinidad de los receptores por la clonidina, concluyendo que existen tres tipos diferentes de receptores alfa postsinápticos, en distintos órganos de rata:

- a) Los receptores de alta afinidad por la clonidina, localizados en la aorta.
- b) Los receptores de baja afinidad, localizados en el conducto deferente.
- c) Los receptores con afinidad intermedia, localizados en la vena porta, bazo y vejiga.

#### IV. Naturaleza de la Neurotransmisión y de los Receptores Adrenérgicos.

La sinapsis es un área de contacto especializado entre dos elementos celulares: el nervio presináptico terminal y una pequeña área de la superficie de la célula postsináptica.

En los contactos sinápticos se origina un proceso de transmisión química, ó neurotransmisión en el que se pueden diferenciar varias etapas:

- 1ª Etapa. Conducción axónica.

Consiste en el paso de un impulso nervioso a lo largo de una axon o fibra muscular, explicado mediante la hipótesis de la membrana de BERNSTEIN 1868 , mediante la cual en respuesta a un estímulo por encima del umbral, se inicia en una región de la mem-

brana el impulso nervioso, o despolarización autopropagada de la membrana, que es conducido seguidamente a lo largo del axón.

- 2ª Etapa. Transmisión en las uniones.

En esta etapa, al llegar el impulso nervioso a las terminaciones axónicas, inicia una serie de sucesos que producen la transmisión de un impulso excitador o inhibidor en la sinapsis:

a) Liberación del transmisor.

Los neurotransmisores o sustancias por medio de los cuales los nervios transmiten sus impulsos en la sinapsis y en las uniones neuroefectoras (AXELROD, 1974), se sintetizan en la región de los terminales axónicos y se depositan en las vesículas sinápticas (estructuras vesiculares situadas junto a las membranas), en forma iónica muy concentrada, sal o complejo fácilmente disociable. Durante el estado de reposo hay una liberación continua y lenta de pequeños "cuantos" del transmisor, de ordinario insuficiente, para producir la iniciación de un impulso propagado a nivel postsináptico. El impulso nervioso o despolarización del terminal axónico, causa una liberación sincrónica de varios cuantos, o lo que es igual, del contenido de varios cientos de vesículas sinápticas, debiendo estar presente en el fluido extracelular el ión  $\text{Ca}^{2+}$ . Este proceso es conocido como Exocitosis (DOUGLAS, 1968).

b) Combinación de los transmisores con los receptores de post-unión y producción del impulso postunional.

El transmisor se difunde rápidamente en la hendidura sináptica (espacio existente entre las membranas presinápticas y postsinápticas). Se combina con los receptores situados en la membrana de la célula postsináptica, produciéndose rápidos y localizados cambios en la permeabilidad iónica de la membrana celular.

c) Iniciación de la actividad de post-unión.

Dependiendo de cual sea el neurotransmisor y cual el tipo de localización receptora, el cambio producido en la permeabilidad de la membrana puede excitar o inhibir el impulso nervioso de la célula postsináptica.

La excitación normalmente se acompaña de un incremento de la permeabilidad de la membrana celular a los iones positivos extracelulares, como el  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ , los cuales entran entonces rápidamente y despolarizan momentáneamente la célula postsináptica. Esto hace que se propague un impulso nervioso por la célula.

La inhibición va acompañada de un incremento en la permeabilidad de la membrana celular a los iones negativos, como el  $\text{Cl}^-$ , el cual entra debido a la hiperpolarización de la célula.

d) Destino del neurotransmisor.

Como los neurotransmisores se transmiten en la unión neuroefectora, a frecuencias que varían desde unos cuantos impulsos a varios cientos por segundo, deben ser desechados después de

cada impulso, lo cual se consigue mediante enzimas especializados o por simple difusión.

El esquema del proceso de la neurotransmisión viene dado en la Fig. 1.

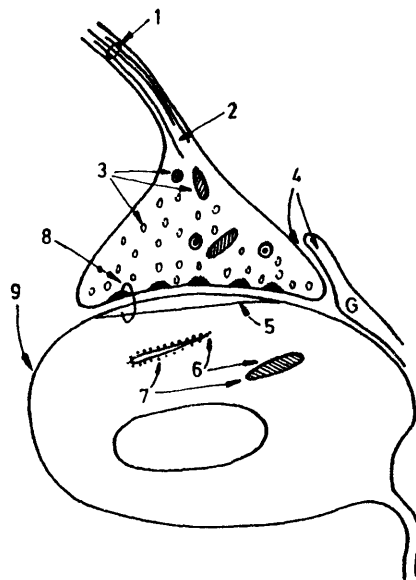


FIGURA-1

Fig. 1.- Etapas en el proceso de la transmisión sináptica:

- 1) Transporte hacia abajo del axon.
- 2) Membrana del axon excitable electricamente.
- 3) Orgánulos y enzimas presentes en la terminación nerviosa para la síntesis, almacenamiento, liberación y reabsorción del neurotransmisor.
- 4) Enzimas presentes en el espacio extracelular y dentro de las células glías, para catabolizar el exceso de transmisión liberado de las terminaciones nerviosas.
- 5) Receptor postsináptico, el cual provoca la respuesta de la célula postsináptica al neurotransmisor.
- 6) Orgánulos dentro de la célula postsináptica que responden al receptor.
- 7) Interacción entre el mecanismo genético de la célula nerviosa postsináptica y sus influencias sobre los orgánulos citoplasmicos que responden a la acción del neurotransmisor.
- 8) Posibles etapas modificables a causa de la especializada zona de contacto sináptico.
- 9) Porción electrica de la membrana de la célula nerviosa la cual en respuesta a varios neurotransmisores, es capaz de integrar el potencial postsináptico y producir una acción potencial.



En lo referente a los receptores que intervienen en la neurotransmisión, se han hecho numerosos intentos durante muchos años para identificarlos, aislarlos y averiguar su funcionamiento.

Uno de los primeros intentos de diseño de un modelo para el receptor adrenérgico fue debido a BELLEAU (1961), según el cual, los receptores alfa y beta pueden pertenecer a una entidad estructural que respondería de una forma u otra, según el lugar al que se haya fijado previamente el agonista. Existirían por tanto, el locus alfa y el locus beta del receptor adrenérgico.

En el locus alfa existiría un anión fosfato, que se uniría mediante un enlace de tipo iónico a uno de los grupos catiónicos del agonista o antagonista que se va a unir al receptor. En el locus beta se produciría una quelación.

Este modelo explica pues, la acción dual de la noradrenalina, ya que esta molécula es capaz de formar un par iónico con un anión fosfato (locus alfa) produciéndose una respuesta excitadora aun en presencia de una quelación en el locus beta del receptor (Fig. 2).

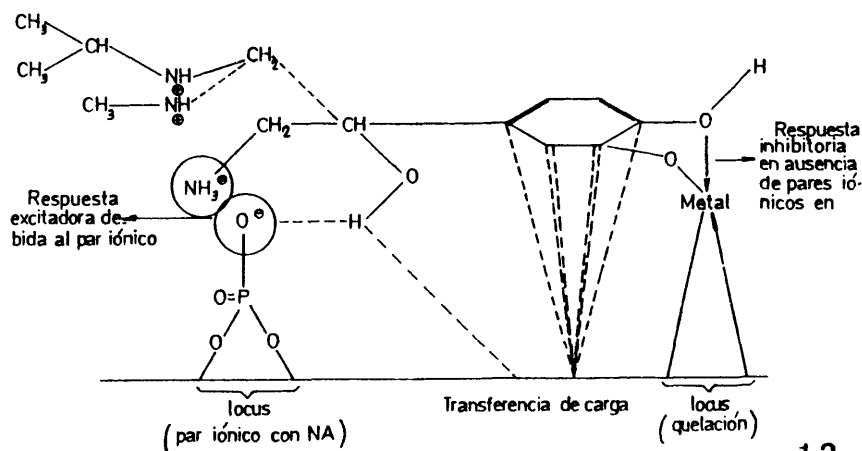


FIGURA-2

Se observó que la monosustitución en la noradrenalina por grupos metilos, étilos e isopropilos, conducía a una disminución de la actividad alfa y a un aumento de la actividad beta. Se daba pues por supuesto que la actividad alfa estaba asociada con un enlace de hidrógeno entre un protón y el receptor cargado negativamente, mientras que la actividad beta podría involucrar un enlace entre un grupo alquilo y el receptor (GEORGE et al. 1971).

ROBINSON en 1967 sugirió que la adenilciclase forma parte de la superficie catalítica del receptor, siendo muy posible que los receptores alfa y beta sean en realidad las partes más externas de este sistema. En lo referente a los receptores beta, se dijo que estaban localizados particularmente en las membranas plasmáticas, con sus localizaciones de unión a las catecolaminas orientadas externamente, requiriendo la interacción del receptor con la adenilciclase una proteína adicional, capaz de ligar los nucleótidos guanina (MAGUIERE et al. 1977; PFEUFFER, 1977, ROSS et al. 1978). Parece pues, que la mayoría sino todas, las acciones de las catecolaminas sobre los receptores beta, requieren la activación de la adenilciclase, con el consecuente incremento en las concentraciones intracelulares de AMP cíclico.

SCHEIN et al (1979) atribuyó el posible mecanismo de relajación de la musculatura lisa, inducida por los beta bloqueantes, a que la activación de la adenilato-ciclase acoplada al beta-adrenoceptor, activaría a la proteína quinasa. La activación de esta última favorecería la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa, incrementando el recambio de iones  $\text{K}^+$  extracelulares por iones  $\text{Na}^+$

intracelulares. Esto aumentaría la concentración del ión  $K^+$  intracelular y disminuiría la del ión  $Na^+$ . Este incremento del gradiente de  $Na^+$  aceleraría el intercambio  $Na^+/K^+$ , teniendo esto como resultado una disminución del  $Ca^{++}$  intracelular y el subsecuente descenso de la contractilidad (Fig. 3).

Este mecanismo da una idea de la importancia de los iones con respecto al receptor. Por ejemplo, TRIGGLE (1972) sugería la existencia de una localización específica para ligar el  $Ca^{++}$ , unida a la localización de la catecolamina que reconocía el receptor. Esta localización podría ser un componente común por medio del cual aumenta o disminuye la unión del  $Ca^{++}$ , mediando las respuestas inhibitorias o excitatorias respectivamente, a los agonistas adrenérgicos. Mientras, IVERSEN (1975) suponía que los receptores eran proteínas de la membrana que en respuesta al transmisor, abren o cierran los Ionóforos o poros de la membrana, que cambian la permeabilidad de la membrana a los iones inorgánicos, como  $Na^+$ ,  $K^+$  y  $Cl^-$ .

Ultimamente, se han propuesto varios modelos que intentan explicar el funcionamiento de los beta-receptores. Entre ellos cabe destacar el de HIRATA et al. (1979) que relaciona la localización del receptor beta con la adenilatociclasa. Supone que al actuar el agonista beta sobre el receptor, este cambia su conformación, lo cual activaría a la metiltransferasa, produciéndose un incremento de la metilación de los fosfolípidos de la membrana y de la translocación de los lípidos metilados. Esto induciría una movilización lateral del beta-adrenoceptor, que haría posible su interacción con la adenilato-ciclase, y su consiguiente activación (Fig. 4).

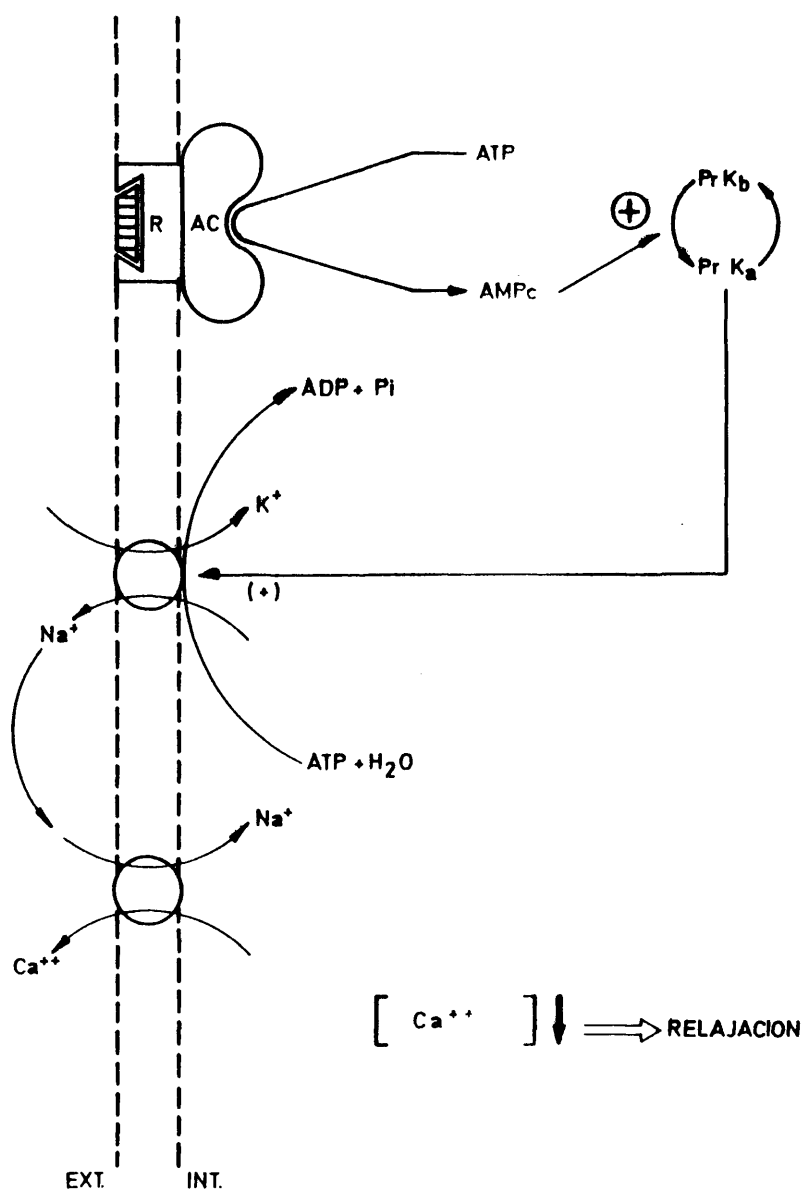


FIGURA - 3



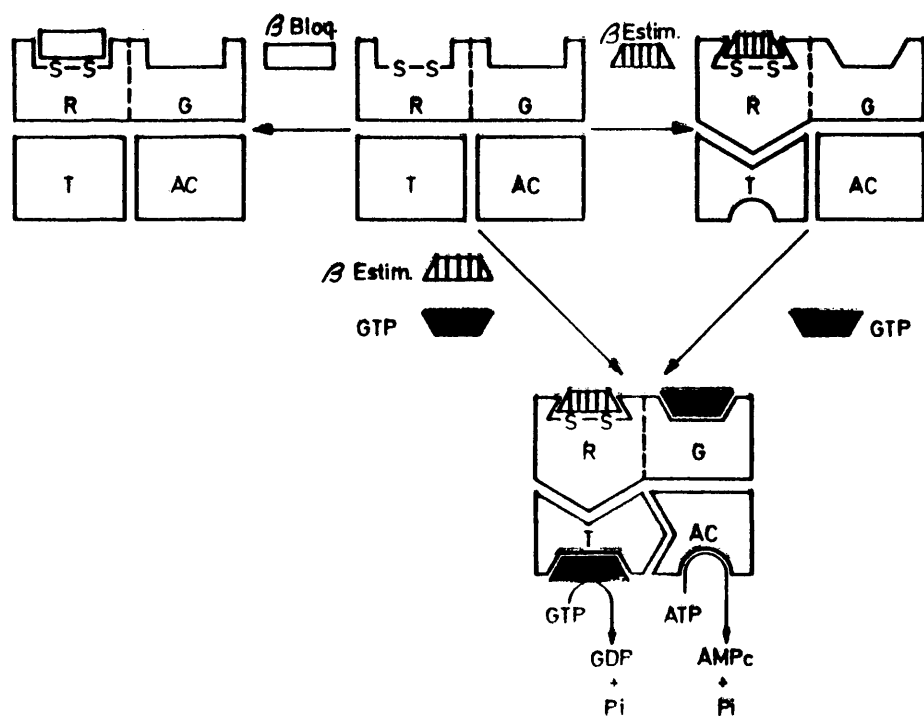


FIGURA - 5

También es interesante el modelo de STROSBURG et al. (1980), en el que considera 4 subunidades (Fig. 5). La primera de ellas corresponde al beta-adrenoceptor, denominada R, en cuya estructura cabe destacar la existencia de un puente disulfuro.

La segunda subunidad puede formar parte del receptor propiamente dicho, o estar intimamente relacionado con el. Tendría como misión la regulación del GTP, por lo que se le denomina G.

La siguiente subunidad se denomina transmisora, T, la cual interacciona con el GTP y posee actividad GTPasa.

La última subunidad sería la adenilato-ciclase, AC.

Según este modelo, al receptor R podrían unirse tanto los agonistas como los antagonistas de las catecolaminas.

En el caso de que la interacción del receptor beta sea con un agonista, se produciría un cambio conformacional en la subunidad R, el cual induciría cambios conformacionales en la subunidad reguladora de GTP y en la transmisora, pudiendo darse entonces la interacción con el GTP, lo cual haría posible que la subunidad T activara la adenilato-ciclase.

Si es un antagonista el que interacciona con el beta-adrenoceptor, la subunidad R no sufriría ningún cambio conformacional, por lo que no se induciría ningún cambio en la subunidad T, no produciéndose entonces ninguna actividad de la adenilato-ciclase, quedando pues bloqueado el beta-adrenoceptor.

#### V) Características generales de los alfa y beta adrenoceptores.

Se pueden ver en las siguientes tablas y esquemas.

TABLA I

CLASIFICACION DE ALGUNAS DE LAS RESPUESTAS INDUCIDAS POR ESTIMULACION DE LOS RECEPTORES ADRENERGICOS.

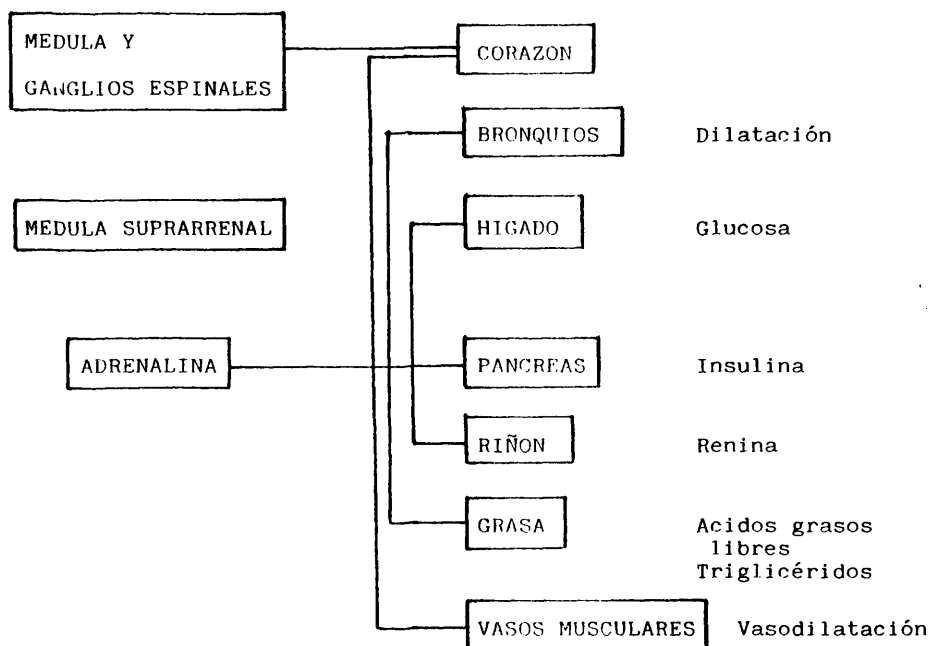
TEJIDO	RESPUESTA MEDIADA POR ALFA-RECEPTORES	BETA-RECEPTORES
<u>Músculo cardíaco</u>		
Mamífero	----	Aumento de ritmo
	----	Aumento de fuerza
	----	Glicogenolisis
Anfibios	Aumento de fuerza y de ritmo (a 22°C)	Aumento de fuerza y de ritmo a (32°C)
<u>Músculo liso</u>		
Arterial	Contracción	Relajación
Intestinal	Inhibición	Inhibición
Esfínteres intestina- les	Contracción	Contracción
Membrana nictitante	Contracción	Relajación
Bazo	Contracción	-----
Bronquial	----	Inhibición
Pilomotor	Contracción	-----
Vejiga urinaria	Contracción (especialmente del trigóno y esfínteres)	Relajación (especialmente del detrusor)
Iris	Contracción (radial)	Inhibición (circu- lar)
Conducto deferente	Contracción	Inhibición de la contracción



TEJIDO	ALFA-RECEPTORES	BETA-RECEPTORES
Utero de rata aislado	-----	Inhibición
Utero de conejo aislado	Contracción	-----
Utero de gato	Contracción (preñado)	Inhibición (virgen)
Utero de perro, conejo y hombre (preñado y no preñado)	Contracción	Inhibición
<u>Músculo esquelético</u>		
	-----	Glicolisis
	-----	Glicogenolisis
	Facilitación de la transmisión	Hiperpolarización
	Potenciación de la contracción (rápida)	Depresión de la contracción (lenta)
<u>Otros órganos</u>		
Glándula submaxilar	Secreción	-----
Transmisión glandular	Supresión	Aumento
Tejido adiposo, rata	-----	----- (Lipolisis)
Tejido adiposo, gato, perro, hombre	-----	Lipolisis
Hígado, todas las especies liberación de K		Calorigénesis
Hígado, perro, gato	-----	Glicogénesis
Hígado, conejo, rata, ratón, hombre	-----	--- (Glicogénesis)

### ACCIONES DE LOS BETA BLOQUEANTES

Esquema de la organización funcional de los receptores:



Las neuronas simpáticas post-ganglionares inervan el corazón y las neuronas pre-ganglionares la médula suprarrenal; la liberación de catecolaminas de la médula suprarrenal estimula tanto el corazón como los receptores beta no inervados de otros tejidos.

TABLA II

CLASIFICACION DE ALGUNOS EFECTOS MEDIADOS POR ESTIMULACION DE LOS  
RECEPTORES BETA.

BETA <sub>1</sub>	BETA <sub>2</sub>
Incremento del ritmo y fuerza cardíaca en mamíferos y aves.	Incremento del ritmo y fuerza cardíaca en anfibios.
Inhibición del intestino	Broncodilatación.
Lipólisis	Vasodilatación
Calorigénesis	Inhibición de útero de rata.
	Glicogenolisis en músculo es- quelético.
	Glicogenolisis en hígado.

TABLA III

AFINIDAD ENTRE LA NORADRENALINA Y LOS RECEPTORES ADRENERGICOS

POSTSINAPTICOS

Especie	Tejido	Adreno- ceptor	$pd_2$	Referencia
Gato	Membrana nictitante	$\alpha$	6,00	Langer y Trendelen- burg 1969
	Bazo	$\alpha$	8,16	Reiffenstem, 1968
Perro	Arteria cerebral	$\alpha$	7,15	Allen et al. 1974
Cobayo	Aorta	$\alpha$	7,17	Guimaraes, 1972
Ratón	Bazo	$\alpha$	7,04	Ignarro y Titus, 1968
Conejo	Intestino	$\alpha$	7,80	Van Rossum, 1965
	Vena porta	$\alpha$	5,88	Hughes y Vane, 1967
	Aorta	$\alpha$	7,36	Kalsner et al. 1970
	Bazo	$\alpha$	6,29	Varma y McCullough 1969
Rata	Vena porta	$\alpha$	6,69	Johansson et al. 1972
	Conducto deferente	$\alpha$	5,92	Varma y McCullough 1969
Bovinos	Arteria coronaria	$\beta$	5,97	Kalsner et al 1975
	Arteria facial	$\beta$	5,05	Kalsner, 1978
	Iris	$\beta$	6,10	Kalsner, 1978
	Traquea	$\beta$	5,83	Kalsner, 1978
Cobayo	Traquea	$\beta$	5,82	Persson y Johnson, 1979
Humano	Colon	$\beta$	4,74	Hedges y Turner, 1969
	Ileo	$\beta$	5,00	Hedges y Turner, 1969
Conejo	Aorta	$\beta$	5,65	Furchgott, 1954
Rata	Tejido adiposo	$\beta$	6,48	Brooker y Calvert, 1967
	Utero	$\beta$	5,78	Levy y Wilkenfeld, 1968

$pd_2$  es el log negativo de la concentración molar que da el 50% de la respuesta máxima.

En esta tabla se observa que la afinidad de la noradrenalina es mayor para los receptores  $\alpha$  que para los  $\beta$ , en gran número de los tejidos estudiados.

VI) Receptores presinápticos y su papel en la regulación de la liberación de transmisores adrenérgicos.

Hasta hace poco tiempo relativamente, el conocimiento que existía sobre el papel de las terminaciones nerviosas noradrenérgicas en la neurotransmisión, estaba enfocado sobre la síntesis, almacenamiento y recaptación del neurotransmisor. Se sabía que durante la liberación provocada por la llegada de los impulsos nerviosos, el neurotransmisor interaccionaba con receptores específicos localizados en la membrana de la célula efectora, postsináptica, disparandose la respuesta del órgano efector: contracción o relajación del músculo liso, efectos cronotrópicos e inotrópicos o secreción de las glándulas salivares.

Se sabía que las principales localizaciones de pérdida de la noradrenalina (Fig. 6) eran:

- a) Recaptura del transmisor liberado a través de la captura neuronal y subsiguiente deaminación o almacenamiento en las vesículas.
- b) Captura extraneuronal seguido de metabolismo por la catecol-o-metiltransferasa y la monoamina oxidasa principalmente.
- c) Unión a los receptores localizados en la célula efectora.

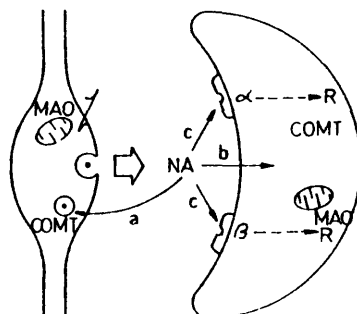


FIGURA-6

En 1957, BROWN y GILLESPIE observaron que la fenoxibenzamina, un agente alfa-bloqueante, aumentaba el sobreflujo de la noradrenalina (nivel de noradrenalina que es recogido en un baño de órganos, en el que se tiene una preparación aislada, durante y después del periodo de estimulación nerviosa) provocada por estimulación nerviosa de una preparación de bazo de gato. En vista de este hecho, postularon que cuando el alfa-adrenoceptor de la célula efectora era ocupado por el agente bloqueante, el transmisor liberado durante la estimulación nerviosa podría no ser capaz de combinarse con estos receptores, por tanto, una gran fracción del transmisor liberado podría ser recogido en el flujo de la preparación, obteniéndose así el aumento del sobreflujo de noradrenalina, sin cambiar la NA liberada.

Teniendo en cuenta la Fig. 6, puede verse que un incremento en el sobreflujo del transmisor puede ser debido al bloqueo de una o varias localizaciones de pérdida del mismo, o a un incremento de la liberación de la noradrenalina sin que sean afectadas las anteriores localizaciones.

Pero la hipótesis propuesta por BROWN y GILLESPIE fue desechada cuando se descubrió que la fenoxibenzamina era también capaz de inhibir la captura neuronal (HERTTING, 1965, IVERSEN, 1965) y la captura extraneuronal de la noradrenalina (IVERSEN, 1967, EISENFELD et al. 1967, IVERSEN y LANGER, 1969).

Aun más, se obtuvo un grado similar o aún mayor de la inhibición de la captura neuronal de noradrenalina con fármacos que no bloqueaban el alfa-adrenoceptor, como la cocaína o desimipramina, no observándose incremento en el sobreflujo del transmisor durante la estimulación nerviosa (BLAKELEY, BROWN y FERRY,

1963, BOULLIN, COSTA y BRODIE, 1967, DUBOCOVICH y LANGER, 1973, LANGER y ENERO, 1974).

Se observó también, que la fenoxibenzamina y otros fármacos alfa-bloqueantes, como la fentolamina, aumenta la liberación del neurotransmisor durante la estimulación nerviosa, aumentando también el sob.flujo del transmisor pero en un rango de concentraciones de los fármacos que no inhibían la captura neuronal ni el extraneuronal (ENERO et al. 1972, DUBOCOVICH y LANGER, 1974, CUBEDDU et al. 1974b, STARKE, 1977). Sin embargo, la relación causal entre el bloqueo de la respuesta del órgano efector por la fenoxibenzamina y el incremento en la liberación del transmisor se excluyó debido a los resultados similares obtenidos en atria aislada de cobayo (LANGER et al. 1971, McCULLOCH et al. 1972), en corazón de conejo perfundido (STARKE et al. 1971) y corazón de gato perfundido (FARAH y LANGER, 1974), en los cuales los receptores adrenérgicos que median la respuesta del órgano efector son del tipo beta.

#### 1. Receptores alfa-presinápticos.

##### a) Modulación de la Neurotransmisión Noradrenérgica.

Todos estos hechos llevaron al nacimiento de la hipótesis de la existencia de un receptor adrenérgico del tipo alfa en la superficie externa de la terminación nerviosa adrenérgica: Receptor alfa-presináptico, el cual estaría involucrado en la regulación de la liberación de la noradrenalina a través de un mecanismo de retroalim.negativo mediado por el propio neurotransmisor.

De acuerdo con esta hipótesis, la noradrenalina liberada por estimulación nerviosa, una vez que alcanza una concentración umbral en la hendidura sináptica, activa los receptores alfa-presinápticos, disparando un mecanismo de retroalim.negativa que inhibe la posterior liberación del transmisor (Fig. 7) (LANGER et al. 1971, ENERO et al. 1972, STARKE, 1972a,b, RAND et al. 1973, LANGER, 1973, LANGER, 1974, LANGER, 1977, 1981, RAND et al. 1982).

Compatible con esta hipótesis es el hecho de que los agonistas de alfa-receptores inhiben la liberación del transmisor durante la estimulación nerviosa (LANGER et al. 1972, STARKE, 1972b, KIPPEKAR et al. 1973, STARKE et al. 1974, STARKE et al. 1975a, LANGER et al. 1975a, LANGER, 1977) mientras que los antagonistas de los alfa receptores aumentan la liberación de noradrenalina (LANGER, 1970, DE POTTER et al. 1971, ENERO et al. 1972, STARKE, 1972a, LANGER et al. 1972, LANGER et al. 1977), independientemente de cual sea el tipo, alfa ó beta, del receptor adrenérgico que media la respuesta del órgano efector (DUBOCOVICH y LANGER, 1974, FARAH y LANGER, 1974, CUBEDDU et al. 1974, LANGER, 1974, LANGER et al. 1975a,b, 1977).

El mecanismo de retroalim negativa para la regulación de la liberación de noradrenalina durante la estimulación nerviosa podría esperarse que operara con mayor efectividad cuando el transmisor liberado por impulsos nerviosos alcance una concentración umbral en la hendidura sináptica (LANGER, 1974). De acuerdo con este punto de vista, se ha demostrado que cuando los almacenes de noradrenalina endógena son agotados o vaciados por un pretratamiento con reserpina o por la inhibición de la síntesis del transmisor por la alfa-metil-p-tirosina, la efectividad de la fenoxibenzamina



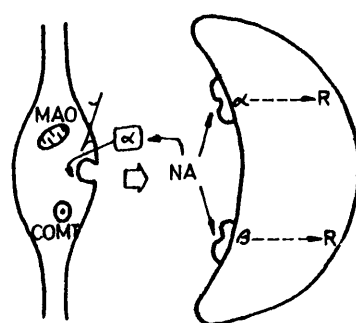


FIGURA-7

Fig. 7.- Representación esquemática del mecanismo de retroalimentación negativa de la NA liberada por estimulación nerviosa, mediado por adrenoceptores alfa-presinápticos.

NA = noradrenalina, MAO = monoamino oxidasa.

COMT = catecol-o-metiltransferasa.

en el aumento del sob.flujo de ( $^3\text{H}$ )-noradrenalina, se pierde casi completamente (ENERO y LANGER, 1973, CUBEDDU y WEINER, 1975). Consecuentemente, parece que cuando la concentración de noradrenalina en la hendidura sináptica cae bajo un cierto umbral, se dispara el mecanismo de ret.al. negativa que regula la liberación de noradrenalina (RAND et al. 1975, el cual pone en duda KALSNER (1982).

Se ha observado también que hay una relación entre la frecuencia de la estimulación nerviosa y la magnitud del neurotransmisor liberado mediante modulación presináptica: cuando estaba presente un agonista de receptores alfa, la cantidad de noradrenalina liberada estaba inversamente relacionada con la frecuencia de estimulación (STARKE et al. 1975a, YAMAGUCHI et al. 1977), y cuando era un bloqueante alfa, su efectividad en el aumento de la NA liberada durante la estimulación nerviosa se reduce progresivamente al aumentar la frecuencia de estimulación (LANGER, 1970, DUBOCOVICH y LANGER, 1974, LANGER et al. 1975a, DUBOCOVICH y LANGER, 1976). Esta dependencia con la frecuencia de estimulación puede ser debida a que a altas frecuencias de estimulación nerviosa se da un aumento en la concentración intracelular de  $\text{Na}^+$  por lo que puede originarse una estimulación de la  $\text{Na}^+-\text{K}^+$  ATPasa activada, la cual inhibe la liberación del transmisor (VIZI, 1977), pudiéndose entonces explicar porque la producción total (output) del transmisor en una estimulación por un único pulso, puede disminuir a altas frecuencias de estimulación nerviosa.

Otro hecho comprobado es que el mecanismo de retroalimentación negativo presináptico, es operativo para la liberación provocada por estimulación nerviosa o por potasio (STARKE y MONTEL, 1973 ).

Es posible que los agonistas de alfa-adrenoceptores pre-

sinápticos inhibían la liberación de NA por reducción de la disponibilidad del calcio para el acoplamiento excitación-secreción, involucrado en la liberación exocitósica del neurotransmisor (LANGER, 1981).

Ya que todas las evidencias que existían sobre los receptores alfa presinápticos se habían obtenido en tejidos adultos, LANGER et al. (1975a), hicieron estudios similares a los ya realizados, pero utilizando tiras de aorta de gatos adultos y jóvenes. Observaron que el mecanismo regulatorio de realimen. negativo, mediado por los alfa-adrenoceptores presinápticos, podía no estar presente en animales muy jóvenes, y que probablemente se desarrollaba al madurar el animal.

b) Diferenciación entre los alfa-adrenoceptores presinápticos y postsinápticos.

Cuando se estudió la potencia de la fenoxibenzamina en el bloqueo de los receptores alfa pre y postsinápticos, utilizando bazo de gato (LANGER, 1973), se encontró una reducción significativa en respuesta a la estimulación nerviosa cuando se usaban concentraciones bajas del alfa-bloqueante, aunque el transmisor liberado no se incrementara bajo esas condiciones experimentales. Se vio que la fenoxibenzamina era de 30 a 100 veces más potente en el bloqueo de los receptores alfa-postsinápticos que en el de los alfa-presinápticos. Estos resultados llevaron a postular que los receptores alfa-adrenérgicos pre y postsinápticos son diferentes (DUBOCOVICH y LANGER, 1974, LANGER, 1974, CUBEDDU, BARNES et al. 1974a, STARKE, BOROSKY et al. 1975b, LANGER, 1977, DREW, 1977,

DOXEY et al. 1977, WIKBERG, 1978 , ARBILLA y LANGER, 1978).

Se sugiere entonces que el receptor alfa-adrenérgico postsináptico se puede llamar  $\alpha_1$ , mientras que el presináptico se puede denominar como  $\alpha_2$  (LANGER, 1974 ).

Para comprobar este hecho se estudiaron diversos fármacos, tanto agonistas como antagonistas, del receptor alfa, en varios tejidos de diferentes especies, viéndose que efectivamente, su potencia era diferente en la localización postsináptica que en la presináptica, como puede verse en las Tablas IV y V.

Recientemente en trabajos efectuados en cerebro de rata usando los agonistas alfa, noradrenalina y oximetazolina, y los antagonistas alfa, fentolamina y yohimbina, se ha encontrado también que los receptores adrenérgicos alfa presinápticos son diferentes a los postsinápticos, siendo también diferentes a los encontrados en los tejidos inervados por el sistema nervioso periférico (WEMER et al. 1979).

STARKE y LANGER (1979) postularon que los receptores presinápticos podían definirse por la función que controlaran: la modulación de la liberación del transmisor. Mientras que los adrenoreceptores  $\alpha_2$  podían caracterizarse y definirse por sus afinidades relativas por los agonistas y antagonistas. Por lo tanto, el término adrenoreceptor  $\alpha_2$  debe ser usado en el contexto de sus características farmacológicas. Por consiguiente la clasificación de los alfa-adrenoreceptores es independiente de la localización anatómica y esta basada exclusivamente en las características farmacológicas, como se ha podido comprobar en la descripción de adrenoreceptores  $\alpha_2$  que no están situados en terminaciones nerviosas noradrenérgicas (BERLAN y LAFONTAN, 1980, RUFFOLO et al. 1980).

TABLA IV

Fármaco	Especie	Tejido	Potencia		Referencia
			Pre	Post	
Yohimbina	conejo	arteria pulmonar	$\alpha_{pres} > \alpha_{post}$		STARKE et al (1975b)
Clonidina	"	"	"		STARKE et al (1974)
$\alpha$ -metilno-radrenalina	"	"	"		STARKE et al (1975a)
Oxymetazolina	"	"	"		"
LSD	rata		"		DREW (1976)
Piperozan			"		CUBEDDU et al (1974a)
Clonidina	rata		$\alpha_{pres} = \alpha_{post}$		DREW (1976)
Fenoxibenzamina	gato	Membrana nictitante	"		ENERO et al (1972)
Oximetazolina	rata		$\alpha_{pres} < \alpha_{post}$		DREW (1976)
Nefazolina	"		"		"
Metoxamina	"		"		"
Fenilefrina	"		"		"
Fenilefrina	conejo	Arteria pulmonar	"		STARKE et al (1975a)
Metoxamina	"	"	"		DUBOCOVICH y LANGER (1978)
Fenoxibenzamina	gato	Bazo	"		DUBOCOVICH y LANGER (1975)
Tolazolina	"	Membrana nictitante	"		ARBILLA y LANGER (1978)
Metanefrina	"	"	"		"

TABLA V

ORDENES DE POTENCIA RELATIVOS DE AGONISTAS Y ANTAGONISTAS PARA LOS ALFA<sub>1</sub> Y ALFA<sub>2</sub> ADRENOCEPTORES\*

ACTIVIDAD	SUSTANCIA	RECEPTORES ESTI- MULADOS O BLOQUEADOS
AGONISTAS	Tramazolina > Clonidina > $\alpha$ -metilnoradrenalina > Oximetabolina	$\alpha_2$
	> Nafazolina = Adrenalina = Noradrenalina >	$\alpha_2 = \alpha_1$
	> Fenilefrina > Metoxamina	$\alpha_1$
	Yohimbina $\gg$ Piperoxan > Tolazolina $\gg$	$\alpha_2$
ANTAGONISTAS	> Fentolamina >	$\alpha_2 = \alpha_1$
	> Fenoxibenzamina $\gg$ Labetalol = Prazosin	$\alpha_1$

\*Estos resultados se obtuvieron en tejidos con innervación periférica de varias especies.

TABLA VI

DISTRIBUCION Y EFECTOS FISIOLÓGICOS MEDIADOS POR ADRENOCEPTORES ALFA<sub>1</sub> Y ALFA<sub>2</sub>

Alfa <sub>1</sub> -Adrenoceptores	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Postsináptico en músculo liso vascular → contracción</li> <li>- " en corazón → inotropismo positivo</li> <li>- " en hígado → activación de la glicogenofosforilasa</li> <li>- " en sistema nervioso central → estimulación</li> </ul>
Alfa <sub>2</sub> -Adrenoceptores neuronales	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Presináptico en terminaciones nerviosas noradrenérgicas periféricas y centrales → inhibición de la liberación de NA</li> <li>- Presináptico en neuronas colinérgicas → inhibición de la liberación de Ach</li> <li>- Presináptico en neuronas serotoninérgicas → inhibición de la liberación de 5HT</li> <li>- Postsináptico en el sistema nervioso central → hipotensión, bradicardia</li> <li>- Autoreceptores somatodendrítico en SNC → inhibición del disparo en neuronas noradrenérgicas</li> </ul>
Alfa <sub>2</sub> -Adrenoceptores No neuronales	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Plaquetas → Agregación</li> <li>- Adipocitos humanos → inhibición de la lipólisis</li> <li>- Isletas pancreáticas → inhibición de la secreción de insulina</li> <li>- Músculo liso vascular → contracción</li> </ul>

La tabla VI resume la distribución y efectos fisiológicos mediados por adrenoceptores  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$ .

Con respecto a la preparación de músculo liso vascular, que aparece en la tabla VI, LANGER (1981) encontró una diferencia entre el bloqueo de las respuestas a la NA liberada endogenamente y la NA exógena, al usar prazosin (antagonista selectivo  $\alpha_1$ ), ya que este era incapaz de bloquear las respuestas a la noradrenalina exógena. Esto puede ser debido a que en este tejido, el adrenoceptor  $\alpha_1$  puede estar localizado en la vecindad de los nervios noradrenérgicos, localización intrasináptica, y ser activado preferentemente por la NA liberada por estimulación nerviosa. Los  $\alpha_2$ -adrenoceptores serán principalmente extrasinápticos y serán estimulados por la NA exógena. Es posible que la captura neuronal limite el acceso de la noradrenalina exógena al adrenoceptor  $\alpha_1$  intrasináptico (Fig. 8).

c) Significado fisiológico del mecanismo de retroalimentación negativo mediado por  $\alpha$ -adrenoceptores presinápticos.

Se puede observar que un aumento en el transmisor liberado, como el obtenido en presencia de agentes bloqueantes  $\alpha$ , origina una potenciación de la respuesta del órgano efector a la estimulación nerviosa (LANGER, 1977).

En tejidos en los cuales la respuesta del órgano efector es mediada por receptores beta (como el corazón), la exposición a agentes bloqueantes  $\alpha$  origina un aumento de las respuestas a la estimulación nerviosa, debido al incremento significativo del transmisor liberado (LANGER et al. 1977), mientras que si las res-



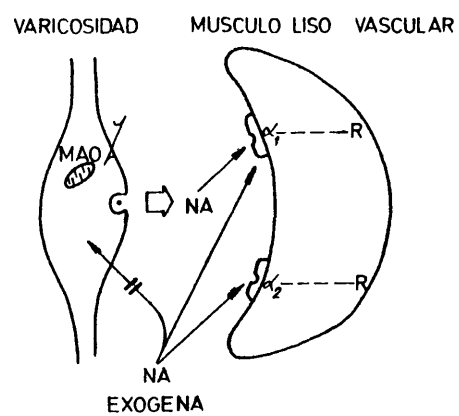


FIGURA - 8

Fig. 8.- Localización postsináptica  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$  en músculo liso vascular.

puestas postsinápticas son mediadas por alfa-receptores (como el bazo), la respuesta a la estimulación nerviosa es reducida (LANGER, et al. 1971).

Resultados similares se obtuvieron en condiciones "in vivo": la clonidina reducía las respuestas cronotrópicas positivas a la estimulación nerviosa cardioaceleradora (CAVERO et al. 1979), mientras que los agentes bloqueantes alfa potenciaban los efectos cronotrópicos positivos de la estimulación nerviosa cardioaceleradora (LOKHANDWALA y BUCKLEY, 1976, YAMAGUCHI et al. 1977).

La presencia de alfa-adrenoceptores presinápticos en nervios vasoconstrictores humanos ha sido demostrada por STJARNE y BRUNDIN, 1975 , 1977; STJARNE y GRIPE, 1973). Usando venas y arterias periféricas obtuvieron una disminución de la NA liberada en presencia de agonistas de alfa-adrenoceptores y un incremento del sob.flujo del transmisor durante la exposición a agentes bloqueantes alfa.

Por último, se puede decir que a nivel clínico, el mecanismo de regulación alfa-presináptico puede ser importante, ya que se puede emplear para reducir la hipertensión, mediante la utilización de la clonidina, la cual tiene efectos hipotensores a través de la inhibición de los receptores alfa, tanto a nivel de sistema nervioso central como periférico (STARKE et al. 1974, LANGER et al. 1975a, LANGER, 1976).

Algunos de los efectos fisiológicos mediados por adrenoceptores  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$  pueden verse en la Tabla VI.

d) Sensitividad de los adrenoceptores presinápticos.

Se ha observado que la estimulación o el bloqueo crónico de los receptores alfa-presinápticos pueden conducir a cambios en lo referente a su sensibilidad al neurotransmisor, como pasaba con los receptores alfa-postsinápticos, pudiendo por tanto afectar la regulación de la neurotransmisión (LANGER y DUBOCOVICH, 1977).

La sensibilidad del receptor alfa-presináptico puede ser reducida después de la exposición a una concentración efectiva de un agonista.

Es posible que después del tratamiento crónico con clonidina, pueda desarrollarse alguna subsensibilidad en los receptores alfa-presinápticos. Cuando se interrumpe repentinamente su administración crónica se pueden producir crisis hipertensivas, quizás debidas a un incremento de noradrenalina liberada de los nervios simpáticos (LANGER y MASSINGHAM, 1980).

e) Influencia de la captura neuronal de la noradrenalina sobre el mecanismo de retroalimentación negativo mediado por alfa-adrenoceptores presinápticos.

Es sabido que otro factor importante en el mecanismo regulatorio a nivel presináptico es la captura neuronal de la noradrenalina, el cual reduce la concentración del transmisor en la proximidad de la superficie exterior de la terminación nerviosa (Fig. 9), produciéndose una especie de gradiente de concentración de la noradrenalina liberada dentro de la hendidura sináptica, que tendría su zona de menor concentración cerca de la terminación nerviosa y la de mayor concentración cerca de la célula efectora. Este meca-

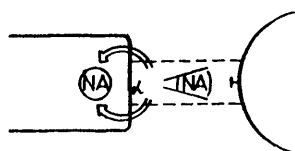


FIGURA-9

Fig. 9.- Diagrama del gradiente de concentración de la NA liberada por estimulación nerviosa, en la hendidura sináptica.

nismo parece modular el mecanismo de retroalimentación negativo presináptico, ya que regula la fracción del transmisor liberado por estimulación nerviosa que está cerca de la terminación nerviosa, y por lo tanto, disponible para activar los receptores alfa-presinápticos (LANGER, 1974). En esta disponibilidad del transmisor puede influir de forma importante la anchura de la distancia neuromuscular. Para comprobarlo, se hicieron estudios en diversos tejidos cuyas distancias neuromusculares eran conocidas, comprobándose que efectivamente, en órganos con hendiduras estrechas el mecanismo de retroalimentación negativo presináptico, de inhibición de la liberación de NA durante la estimulación nerviosa, juega un papel más importante como mecanismo regulatorio que en tejidos con hendiduras sinápticas anchas (LANGER et al. 1975b, ADLER-CRASCHINSKY y LANGER, 1975, BEVAN, 1978, CHAN y KALSNER, 1979).

f) Papel de los nucleótidos cíclicos en la inhibición presináptica de la liberación de noradrenalina.

En lo que se refiere al papel del AMP cíclico, los agonistas de alfa-adrenoceptores de la serie de la imidazolina reducen sus niveles en los tejidos (SKOLMICK et al. 1978), sugiriéndose que la inhibición del neurotransmisor a través de la activación de los receptores alfa-presinápticos puede estar unida a una disminución de los niveles de AMP cíclicos (WIKBERG, 1979), pero aun faltan evidencias adicionales para clarificar el papel de los nucleótidos cíclicos en la modulación presináptica de la liberación de NA.

## 2. Receptores beta-presinápticos.

Se ha postulado que adicionalmente al mecanismo de feed-back negativo presináptico mediado por receptores alfa-adrenérgicos, existe un mecanismo de ret. alim. positivo en las terminaciones nerviosas adrenérgicas que es disparado por medio de la activación de adrenoceptores beta-presinápticos (LANGER et al. 1974, ADLER-GRASCHINSKY y LANGER, 1975, STJARNE y BRUNDIN, 1975, DAHLOK et al. 1975, LANGER, 1976, STJARNE y BRUNDIN, 1976, YAMAGUCHI et al. 1977).

Esta hipótesis se basa en el hecho de que la exposición a concentraciones bajas de isoprenalina (agonista de beta-receptores), aumentaba la liberación de noradrenalina durante la estimulación nerviosa a frecuencias bajas, en varios órganos inervados noradrenérgicamente como: atria de cobayo, bazo perfundido, aorta torácica y membrana nictitante de gato, oviducto y nervios vasoconstrictores humanos (LANGER et al. 1974, ADLER-GRASCHINSKY y LANGER, 1975, LANGER et al. 1975a,b, STJARNE y BRUNDIN, 1975; HEDQUIST y MOAWAD, 1975, STJARNE y BRUNDIN, 1976, CELUCH et al. 1978, WEINSTOCH et al. 1978, DUBOCOVICH et al. 1978, PELAYO et al. 1978, DAHLOF et al. 1978, 1980). TAUBE et al. (1979), demostró la existencia de receptores beta presinápticos en cortex occipitales de rata.

El incremento de la liberación de transmisor obtenido en presencia de isoprenalina es independiente de la naturaleza alfa ó beta de la respuesta del órgano efector al transmisor (LANGER et al. 1975a, CELUCH et al. 1978). Este aumento en la liberación del transmisor tiene caracter estereoespecífico, ya que se produce con

el (-)-isoprenalina y no con el isómero (+)-isoprenalina (LANGER, 1976).

STJARNE y BRUNDIN (1975 ), sugieren que los receptores beta-presinápticos pueden ser activados por los niveles de catecolaminas circulantes y puede ayudar la función de aumento de secreción de transmisor simpático durante las condiciones de secreción aumentada de hormona adreno-medular.

Parece ser, que el mecanismo deret.alim. positivo es activado por agonistas beta, sobre todo a bajas frecuencias de estimulación nerviosa, originando un incremento en la liberación de transmisor (Fig. 10). Los receptores beta-presinápticos parecen mediar un mecanismo deret.alim. positivo para la liberación de nora-drenalina a frecuencias de estimulación baja, ya que esta NA liberada podría facilitar su propia liberación a través de la activación de los adrenoceptores beta-presinápticos (LANGER, 1977).

La naturaleza  $\beta_1$  ó  $\beta_2$  de los receptores beta presinápticos es sujeto de controversia, ya que por ejemplo DAHLOF et al. (1975) creen que es de naturaleza  $\beta_1$ , mientras que STJARNE y BRUNDIN (1976), sugieren que es de naturaleza  $\beta_2$ . No obstante hay que considerar que estos resultados, al igual que muchos otros, han sido obtenidos en diferentes especies y tejidos, lo cual puede originar estas diferencias, aunque actualmente se considera la posibilidad de que los beta-adrenoceptores presinápticos, que median la facilitación de la liberación del transmisor durante la estimulación nerviosa a baja frecuencia, pueden ser diferentes de los adrenoceptores postsinápticos  $\beta_1$  y  $\beta_2$ , ya que se ha comprobado que los receptores beta presinápticos poseen

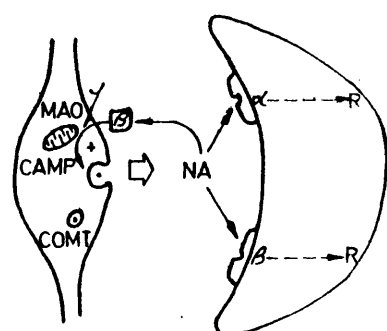


FIGURA - 10

Fig. 0.- Representación esquemática del mecanismo de retroalimentación positivo de la NA liberada por estimulación nerviosa, mediado por adrenoceptores beta-presinápticos.



una afinidad por los agonistas y antagonistas, diferente a la que muestran los receptores beta postsinápticos (LANGER, 1981).

La facilitación de la liberación del transmisor disparada por la activación de receptores beta-presinápticos puede ser mediada por un incremento en los niveles de AMP cíclico en las terminaciones nerviosas noradrenérgicas (Fig. 9) (WOOTEN et al. 1973, LANGER et al. 1975a, CUBEDDU et al. 1975, CELUCH et al. 1978, DUBOCOVICH et al. 1978, PELAYO et al. 1978).

ROTH et al. (1975) postularon que la adenilatociclasa presente en las terminaciones nerviosas noradrenérgicas estaban involucradas a través del incremento de la formación de AMP cíclico en la activación de la tirosina hidroxilasa, como resultado de la estimulación nerviosa. No estaba claro si había una localización común de acción presináptica que facilitara la liberación de NA mediada por receptores beta-presinápticos, y que incrementase la actividad de la tirosina hidroxilasa que aparece durante y después de la estimulación nerviosa simpática. Ambos mecanismos parecen ser mediados por un incremento de los niveles de AMP cíclico en las terminaciones nerviosas.

En lo que se refiere a su papel fisiológico, parece ser que existe la posibilidad de que los efectos antihipertensivos de los agentes bloqueantes de beta-adrenoceptores puedan ser debidos, al menos parcialmente, al bloqueo de los adrenoceptores beta-presinápticos que facilitan la liberación de noradrenalina durante la estimulación nerviosa en el sistema nervioso periférico (ADLER-GRASCHINSKY y LANGER, 1975, McDEVITT, 1979, FRANCO-MORSELLI et al. 1977, LANGER et al. 1978). El papel fisiológico de los adrenocep-

tores beta-presinápticos también ha sido demostrado en condiciones "in vivo" en perros anestesiados (YAMAGUCHI et al. 1977).

3. Hipótesis de trabajo de la participación de los adrenoceptores alfa y beta presinápticos en la regulación de la liberación del transmisor durante la estimulación nerviosa.

Parece ser que existen dos tipos de mecanismos presinápticos involucrados en la autoregulación de la liberación de noradrenalina durante la estimulación nerviosa. El primero de ellos ó de retroalim. positivo, estaría mediado por adrenoceptores beta-presinápticos, los cuales podían ser activados por bajas concentraciones de noradrenalina (en el rango de frecuencias de estimulación nerviosa bajas), conduciendo a un incremento en la liberación del transmisor (Fig. 11).

Al incrementarse la concentración de NA liberada en las cercanías de la superficie exterior de la terminación nerviosa, se alcanzará el umbral que servirá para disparar el segundo de los mecanismos, de ret.alim.negativo, mediado por alfa adrenoceptores presinápticos, conduciendo a una inhibición de la liberación del transmisor.

El mecanismo de ret.alim.positivo, que facilita la liberación del transmisor, parece ser que es mediado por un incremento en los niveles de AMP cíclico en las terminaciones nerviosas noradrenérgicas. Mientras que el mecanismo de feedback negativo, que conduce a la inhibición de la liberación de NA, funciona por la restricción del calcio disponible para el acoplamiento excita-

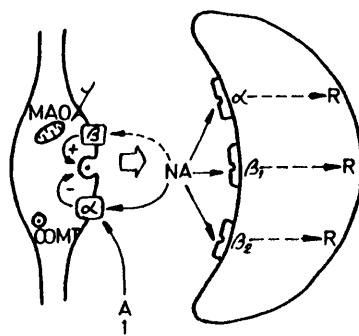


FIGURA - 11

Fig. 11.- Papel de los adrenoceptores presinápticos alfa y beta en la regulación de la NA liberada por estimulación nerviosa.

NA = noradrenalina, A = Adrenalina circulante.

ción-secreción (LANGER, 1977).

En apoyo de esta hipótesis de trabajo, es de interés observar que, en la mayoría de los tejidos, las concentraciones de noradrenalina requeridas para la estimulación de los alfa-adrenoceptores postsinápticos son unas 100 veces más altas que las necesarias para estimular los receptores beta-postsinápticos (ADLER-GRASCHINSKY y LANGER, 1975, LANGER et al. 1975b). Si las afinidades relativas de la NA por los adrenoceptores alfa y beta postsinápticos pudiesen ser extrapolados a los receptores presinápticos, esta diferencia en la potencia podría ser compatible con la siguiente hipótesis: concentraciones bajas de NA liberada activarían los receptores beta-presinápticos, mientras que los adrenoceptores alfa-presinápticos serían activados cuando una concentración del transmisor más alta (umbral), fuese alcanzada en la hendidura sináptica (Fig. 1f).

Se ha observado que la magnitud del incremento en la liberación del transmisor obtenido con agentes bloqueantes alfa, es más pronunciada que con cualquier estimulación de los beta-receptores. Esto indica que el mejor mecanismo regulatorio para la liberación de la noradrenalina, por estimulación nerviosa, bajo condiciones fisiológicas, es el mediado por adrenoceptores alfa-presinápticos (LANGER et al. 1975b, LANGER, 1977).

#### 4. Otros tipos de receptores presinápticos en las terminaciones nerviosas noradrenérgicas.

Además de los adrenoceptores alfa y beta presinápticos, existe una gran variedad de localizaciones receptoras en las ter-

minaciones nerviosas noradrenérgicas (Fig. 12):

- a) Colinoceptores muscarínicos, inhibitorios (STEINSLAND et al., 1973).
- b) Receptores dopaminérgicos, inhibidores (McCULLOCH et al. 1973, ENERO y LANGER, 1975).
- c) Receptores opiáceos, inhibitorios (HUGHES et al. 1975).
- d) Receptores prostaglandínicos, inhibitorios (HEDQVIST, 1970, STJARNE, 1973, DUBOCOVICH y LANGER, 1975, HEDQVIST, 1976).
- e) Receptores adenosínicos, inhibitorios (HEDQVIST y FREDHOLM, 1976).
- f) Receptores de angiotensina II, facilitadores (STARKE, 1970, 1971, HUGHES y ROTH, 1971).
- g) Receptores nicotínicos, facilitadores (LINDMAR et al. 1968, LOFFELHOLZ, 1970).

Algunos de estos receptores presinápticos no están presentes en todas las terminaciones nerviosas noradrenérgicas del sistema nervioso periférico.

Hay que considerar, que excepto en el caso de los adrenoreceptores alfa y beta presinápticos, parece ser que los otros receptores presinápticos no juegan un papel fisiológico en la neurotransmisión noradrenérgica, y consecuentemente su importancia farmacológica es bastante mayor que la fisiológica. Sin embargo, se pueden activar por agonistas o sus análogos, para modificar la neurotransmisión simpática en el sistema nervioso periférico.

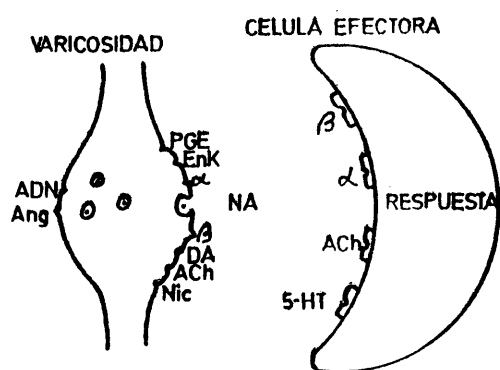


FIGURA-12

Fig. 12.- Representación esquemática de los receptores pre y post-sinápticos en una unión neuroefectora noradrenérgica en el sistema nervioso periférico.

PGE = prostaglandinas de la serie E, Enk = receptores opiáceos,  $\alpha$  = adrenoceptores alfa,  $\beta$  = adrenoceptores beta, DA = receptores dopaminérgicos, ACh = colinoceptores muscarínicos, Nic = receptores nicotínicos, ADN= receptores adenosínicos, Ang = receptores de angiotensina II, 5-HT = receptores de 5-hidroxitriptamina.

## 2) Conducto Deferente

### I. Anatomía del conducto deferente.

#### Dimensiones.

##### A) Rata.

La longitud del conducto deferente está comprendida entre los 30 y 50 mm. El diámetro de su porción central oscila entre 1,5 y 2,5 mm.

##### B) Cobayo.

La longitud del conducto deferente está comprendida entre 30 y 35 mm. El diámetro en su porción central oscila entre 0,2-0,3 mm.

##### C) Ratón.

La longitud aproximada es de 15 a 25 mm. El diámetro medio en su parte media oscila entre los 0,5 y 1mm.

En todas estas especies, el diámetro del conducto deferente no es uniforme, encontrándose que su extremo terminal más cercano a la uretra es prácticamente el doble que el de la porción que se encuentra cerca del epididimo.

#### Forma y consistencia.

Es prácticamente idéntica en las tres especies de roedores.

El conducto deferente tiene una forma cilíndrica, a excepción de su extremo cercano a la uretra, el cual se aplana ligeramente y aumenta su diámetro con respecto al resto. Dicha porción confluye en una glándula del conducto deferente denominada "glandula ampular" ó "ampolla del conducto deferente".

En todo el conducto deferente y principalmente en la porción terminal, se observa una gran consistencia, debida al gran espesor de sus paredes.

#### Trayecto.

El conducto deferente se inicia a continuación del conducto epididimario, dirigiéndose de abajo hacia arriba paralelamente al epididimo. Posteriormente se separa del epididimo y mezclado con la grasa que existe alrededor del testículo, se dirige verticalmente hacia arriba, saliendo por el conducto inguinal hasta llegar a la cavidad pélvica para terminar en la parte posterior de la vejiga.

#### Divisiones.

A lo largo de su recorrido desde las bolsas testiculares



hasta la pelvis, el conducto deferente puede dividirse en dos porciones fundamentales:

A) "Pars ureteralis": es la que termina en la ampolla del conducto deferente. Es la más gruesa de las dos porciones y posee mayor cantidad de fibras musculares por lo que es de gran importancia en la contracción del conducto deferente.

B) "Pars epididimalis": se encuentra en contacto con el epididimo y es mucho más fina y tortuosa que la otra.

En ella se pueden distinguir a su vez varias partes:

1) "Caput epididimi": está enrollada alrededor del polo anterior del testículo del cual recibe la red de finos vasos denominada "vasa efferentia".

2) "Cauda epididimi": es la parte final de la porción epididimal continuando con el conducto deferente propiamente dicho.

3) "Corpus epididimi": conecta el caput y el cauda entre sí.

#### Vascularización.

Los conductos deferentes, desprovistos de glándulas netamente diferenciadas, constituyen simples conductos vectores de esperma, por lo que debido a su misión pasiva no tienen gran necesidad de vascularización.

A) Arterias. Son las arterias espermáticas. La derecha sale directamente de la aorta. La izquierda lo hace de la arteria renal del mismo lado.

B) Vasos. Son las venas espermáticas. La derecha y la izquierda son ramas de la vena cava inferior.

C) Linfáticos. Se disponen en dos redes, una en la mucosa y otra en la muscular.

D) Inervación. Debido al importante papel que desempeña tanto farmacológicamente, como fisiológicamente, numerosos autores han estudiado la inervación del conducto deferente en diversas especies animales siendo BUDGE (1858) el primer investigador que estudió la inervación de los órganos genitales del macho, observando en el conejo que al ser estimulado el ganglio mesentérico inferior, ó el nervio hipogástrico, se producían contracciones en el conducto deferente, seguido por LOEB (1866) que descubrió la contracción de las vesículas seminales como respuesta a la estimulación del nervio hipogástrico. En lo que se refiere al conducto deferente, REMY (1886) observó la contracción del conducto deferente de cobayo por estimulación del ganglio mesentérico inferior.

Este tipo de investigaciones fue seguido por gran número de investigadores, como son LANGLEY y ANDERSON (1896), LEARMONTH (1931), TRUMBLE (1934), y MICHELL (1953), a los cuales se debe la mayor parte de los datos conocidos, entre los cuales podemos considerar:

- El conducto deferente como todos los órganos pélvicos, recibe inervación del parasimpático y del simpático.

- Las fibras parasimpáticas proceden de la región sacra y forman dos nervios denominados "nervios pélvicos": uno derecho y otro izquierdo. Estas fibras penetran, junto con las terminaciones simpáticas del hipogástrico, en los distintos órganos.

Las fibras simpáticas emanan del ganglio mesentérico inferior, y a través del nervio hipogástrico, llegan al conducto deferente. Las fibras preganglionares, que llegan al ganglio mesentérico, emanan de la cadena simpática L<sub>4</sub>, L<sub>5</sub>, L<sub>6</sub>. Otras ramas llegan al ganglio mesenterico inferior, del ganglio mesentérico superior, y del estrellado, como puede observarse en la Fig.13. Del ganglio mesentérico inferior, emerge el nervio hipogástrico que se dirige hacia la pelvis. Cuando el nervio hipogástrico llega a los órganos pélvicos, forma un plexo que se denomina "plexo pélvico", el cual está situado en el tejido conectivo de los distintos órganos.

SJOSTRAND (1965) demostró la existencia de inervación del conducto deferente y las glándulas accesorias por neuronas adrenérgicas cortas.

FERRY (1967) puso de manifiesto la existencia de células ganglionares en los dos últimos centímetros del nervio hipogástrico, lo cual demostró la existencia de células ganglionares dentro del tejido conectivo, en gran proximidad al conducto deferente. Por tanto, el nervio hipogástrico lleva fibras postganglionares que tienen su neurona en el ganglio mesentérico inferior, y fibras preganglionares que hacen sinapsis en las células ganglionares descritas anteriormente.

#### Histología.

El conducto deferente está constituido por tres capas, que de fuera adentro son:

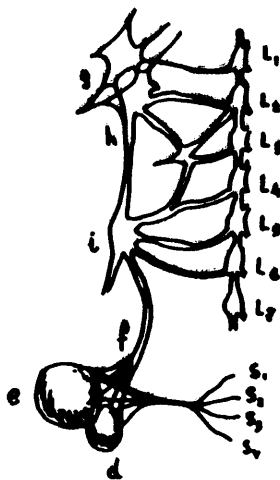


FIGURA 13

#### INERVACION DE LOS ORGANOS GENITALES ACCESORIOS

d) Prostata. e) Vesículas urinarias. f) Nervio hipogástrico.  
g) Ganglio estrellado. h) Ganglio mesentérico. i) Gánglio  
mesentérico inferior.

- A) Adventicia.- Está constituida por tejido conjuntivo, por el interior del cual discurren los vasos y filetes nerviosos.
- B) Muscular.- La capa muscular, notable por su desarrollo, representa la casi totalidad del espesor del conducto deferente. Está formada por distintas capas de fibras musculares lisas que se disponen de diferentes formas en el espacio. Es la responsable de la capacidad de respuesta del conducto deferente a los distintos estímulos.
- C) Mucosa.- Se encuentra en la parte interna. Está formada por tejido epitelial cilíndrico desprovisto de glándulas.

## II. Anatomía de los órganos accesorios.

### A) Rata y Ratón.

En la zona donde termina el conducto deferente se encuentra la "glándula ampular" o "ampolla del conducto deferente".

Las vesículas seminales de rata son más grandes y desarrolladas en su función, que las de otros mamíferos inferiores. Su zona convexa es rizada, mientras que en la zona concava se alojan otras glándulas, "glándulas coaguladoras" (Fig. 14 ). Por delante de todo esto, se situa la próstata, que presenta dos porciones perfectamente definidas, una ventral y otra dorsal (SJOSTRAND, 1965).

Las glándulas bulbo-uretrales se encuentran al lado de los músculos isquio-cavernoso y bulbo-cavernoso cerca de la base del pene.

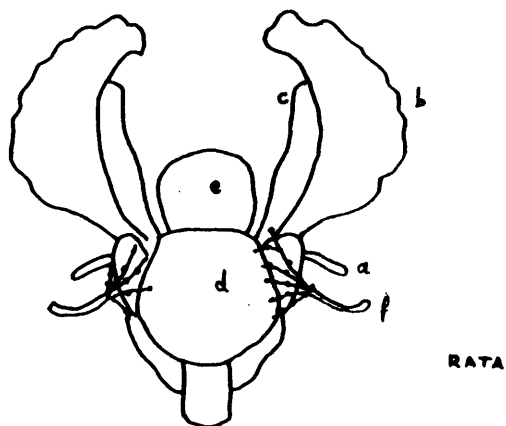
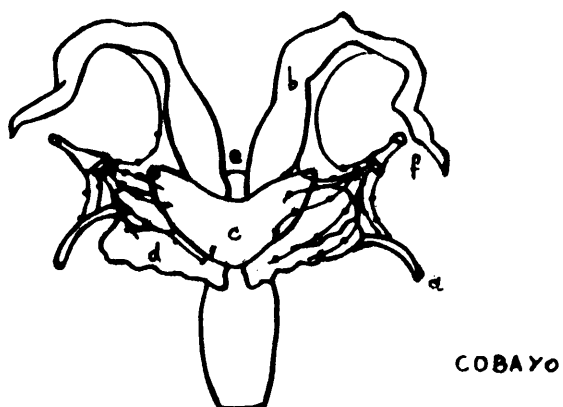


FIGURA 14

#### ANATOMIA DE LOS ORGANOS GENITALES ACCESORIOS DE LOS ROEDORES

a) Conducto deferente. b) Vesícula seminal. c) Glándula coaguladora. d) próstata. e) Vesícula urinaria. f) Nervio hipogástrico (terminales adrenérgicos cortos).

#### B) Cobayo.

Los testículos se encuentran en la cavidad abdominal poseyendo un corto y musculoso conducto deferente, careciendo de ampolla del conducto deferente.

Las vesículas seminales, de menor tamaño que las de rata y de superficie lisa son sacos aplanados y alargados cuyo contenido es una secreción viscosa (Fig. 14 ). Poseen además una gruesa pared muscular.

En la base de las vesículas seminales se encuentran el complejo prostático, formado por tres pares de glándulas tubulo-alveolares. En este complejo se encuentran dos próstatas (dorsal y lateral) y la glándula de coagulación (SJOSTRAND, 1965).

### III. Funciones del conducto deferente.

Las funciones del conducto deferente son:

#### A) Transporte de espermatozoides.

Es la función más importante del conducto deferente. El conducto deferente está dotado de una masa muscular, por la cual mediante movimientos peristálticos, transporta los espermatozoides desde la porción epididimal a la uretral.

Esta motilidad es mayor en los momentos de la eyaculación durante la cual el flujo de espermatozoides es más importante (TISCHNER, 1972). Durante los periodos de inactividad sexual los movimientos de la musculatura del conducto de-

ferente disminuyen, pero no totalmente, persistiendo motilidad espontánea modulada por la liberación de neurotransmisores. Como resultado de esta motilidad espontánea existe un flujo constante de espermatozoides en los animales machos adultos (VENTURA y cols. 1973).

#### B) Absorción.

Es un mecanismo que se da en el epitelio del conducto deferente, y que influye poderosamente en la composición del esperma.

Las células epiteliales de la parte proximal del conducto deferente contienen numerosas vesículas, vacuolas y lisosomas, sugiriendo que dicho epitelio absorbe material desde el lumen.

FRIEND y cols. (1967) concluyen que el conducto deferente puede variar el contenido del semen mediante un sistema de absorción selectiva, verificado por transportadores específicos.

Este mecanismo de absorción varía de una especie animal a otra en función de la distinta composición del líquido espermático.

#### C) Secreción.

Este mecanismo se da también en el epitelio del conducto deferente. Tiene lugar en la porción mas próxima a la ampolla del conducto deferente.



Se ha podido demostrar la secreción de sustancias como lípidos, proteínas, polisacáridos, testosterona y colesterol (HAMILTON y cols. 1969).

D) Almacenamiento.

La capacidad de almacenamiento del conducto deferente es insignificante.

TISCHNER (1972) vio la distribución de los espermatozoides en carneros machos, en periodos inactivos, siendo de 0,4% en el conducto deferente y de 57% en el epididimo.

#### IV) Neurotransmisión en el conducto deferente.

La inervación del conducto deferente ha sido investigada por muchos autores, atendiendo el aspecto farmacológico.

BOYD, CHANG y RAND (1960) sugirieron que los efectos de ciertos agentes antiadrenérgicos sobre el conducto deferente de cobayo podían ser debidos a la actividad anticolinesterasa de estos compuestos, lo cual llevó a BURN y WEETMAN (1963) a proponer la existencia de una unión colinérgica en la terminación de la fibra postganglionar, por medio de la cual un impulso nervioso libera acetilcolina de su depósito, la cual media la liberación del transmisor adrenérgico.

HUKOVIC (1961) obtuvo contracciones longitudinales del conducto deferente de cobayo, estimulando el nervio hipogástrico, observando que esta respuesta contráctil permanecía durante varias horas. En esta misma preparación estudió también las acciones de distintos fármacos sobre la respuesta contráctil del conducto deferente, pudiendo ver como la cocaína aumentaba la respuesta de manera gradual y como permanecía este efecto aun después de lavada la preparación. También observó como la NA Producía directamente contracciones y cuando se administraba en perfusión potenciaba las respuestas contráctiles del conducto deferente inducidas por estimulación del nervio hipogástrico. La reserpinización durante dos días antes de realizadas las experiencias disminuía dicha respuesta. A la vista de estos resultados, HUKOVIC concluía que la neurotransmisión, al menos con la frecuencia de estimulación de 80 Hz es adrenérgica y esta de acuerdo con el tipo de inervación

simpática del conducto deferente.

En 1964 HOLMAN y JOWETT encuentran que la NA liberada durante la estimulación nerviosa, puede tanto inhibir como estimular la contracción del conducto deferente de rata.

SJOSTRAND (1965) demostró la existencia de células ganglionares en el tejido conectivo que se encuentra envolviendo el conducto deferente, hallazgo comprobado por FERRY (1967) al demostrar la existencia de esas neuronas ganglionares en los dos últimos centímetros del nervio hipogástrico, quedando de esta forma plenamente demostrado que el nervio hipogástrico no solo lleva fibras postganglionares con su neurona en el ganglio mesentérico superior, sino también fibras preganglionares que tendrían su neurona en la proximidad del conducto deferente o en el interior del tejido conectivo que lo envuelve, concluyendo que en el conducto deferente de cobayo la inervación principal es adrenérgica.

A pesar de las variadas interpretaciones de la inervación del conducto deferente, LARGE (1965), propuso que en dicho tejido podría darse un mecanismo adrenérgico con receptores alfa y beta. Para demostrarlo estudió los efectos del isoproterenol, adrenalina, fentolamina, pronetanol y dicloroisoproterenol sobre las contracciones del conducto deferente de cobayo inducidas por estimulación del nervio hipogástrico. De todo ello dedujo que existían receptores beta, debido a que a concentraciones bajas de adrenalina, se estimulaban los beta-receptores, provocándose una reducción de las respuestas a la estimulación nerviosa. Al aumentar la concentración de adrenalina, las contracciones del conducto deferente se potencian debido a la estimulación predominante

de los receptores alfa. El isoproterenol también poseía estas acciones duales, dependiendo de si su concentración era pequeña, acción inhibitoria, o si era grande, en cuyo caso se potenciaba la contracción del conducto deferente.

La dicloroisoprenalina y el pronetanolol a altas concentraciones, reducían las contracciones del conducto deferente, debido probablemente a su acción beta-simpaticomimética.

De todo ello, deducía que la estimulación nerviosa del conducto deferente provoca la contracción de dicho órgano, debido a que los efectos estimulantes alfa predominan sobre los efectos beta inhibitorios.

En 1969, HOTTA tomó como modelo para la hipótesis del receptor adrenérgico el conducto deferente de cobayo, ya que observó que las contracciones de esta preparación provocadas por estimulación nerviosa eran reducidas por noradrenalina exógena. Desde entonces, esta preparación ha sido usada para verificar y extender las implicaciones del sistema de receptores adrenérgicos presinápticos.

BIRMINGHAM (1970) observó las variaciones en la reactividad del conducto deferente por la denervación de uno de ellos, dejando el otro como control. En los denervados el contenido de catecolaminas fue disminuyendo paulatinamente y transcurridos ocho días de realizada la denervación, llegaban a su disminución total. Esto explicaría el incremento de la sensibilidad de los conductos deferentes denervados con respecto a los que permanecen en condiciones control.

JOHNSON (1971) encontró que la fenoxibenzamina (30  $\mu$ M)

aumentaba la liberación de noradrenalina inducida por estimulación en el conducto deferente de cobayo, lo que iba unido a una expulsión de mayores cantidades de dopamina-beta-hidroxilasa soluble. Esto reforzaba la teoría de un aumento de la expulsión exocitótica del transmisor por el antagonista, a dicha concentración.

Hasta este momento existían gran variedad de comunicaciones, lo cual condujo a una idea muy conflictiva sobre el papel que podría jugar la noradrenalina como neurotransmisor en el conducto deferente de la mayor parte de las especies, ya que eran requeridas grandes dosis de noradrenalina para producir la contracción de dicho órgano (GRAHAM et al. 1968, BIRMINGHAM, 1970). En la mayoría de dichos estudios, las contracciones del conducto deferente eran resistentes a los antagonistas de los alfa-adrenoceptores, excepto a concentraciones muy altas (AMBACHE y ZAR, 1971). También se observó que pequeñas dosis de NA causaban inhibición de las respuestas contráctiles evocadas por estimulación eléctrica de campo, las cuales no eran mediadas por un efecto sobre los beta-adrenoceptores, mientras que dosis elevadas tendían a aumentarlas, debido a la activación postsináptica alfa.

Todo ello condujo a AMBACHE y ZAR (1971) a discutir el concepto de que la NA actuaba como neurotransmisor en el conducto deferente de cobayo, llegando a concluir que la neurotransmisión en este órgano no era adrenérgica, ni tampoco colinérgica (ya que no se abolía por atropina ni se potenciaba con agentes anticolinérgicos), descartando también la posible participación como neurotransmisor de la Serotonina, GABA y ATP.

Aun no siendo la neurotransmisor adrenérgica, se encon-

traron modificaciones de las respuestas producidas por la noradrenalina exógena y por la NA liberada por la fibra presináptica, lo que permitía concluir a estos autores que esta amina se comportaba como un neurotransmisor inhibitor y por lo tanto, la modificación de su liberación podía originar cambios en la contractilidad de dicho órgano.

Apoyando esta teoría, Von EULER y HEDQVIST (1975), comprobaron que el efecto de la NA sobre la contracción producida por estimulación nerviosa en el conducto deferente de cobayo, podía ser mimetizada por la acción indirecta de aminas, como la tiramina o la fentolamina, ejerciendo la última la acción mas fuerte. Ambas aminas podían producir inhibición o aumento de la contracción producida por estimulación nerviosa, concluyendo que el efecto inhibitorio de estas aminas era debido a un efecto presináptico de la noradrenalina liberada. El efecto inhibitorio causado por la acción indirecta de las aminas era antagonizado por la acción de los antagonistas alfa y  $\beta_2$  conjuntamente, pero no por ninguno de ellos por separado.

Siguiendo con el estudio de la neurotransmisión en el conducto deferente, HEDQVIST y von EULER (1976) observaron que la NA, bien la exógena o la liberada endogenamente, afectaba la contracción del conducto deferente de cobayo como respuesta a la estimulación transmural, en mas de una forma. El aumento producido en algunas ocasiones era presumiblemente alfa postsináptico y se debía a un efecto directo sobre las células musculares. Esta acción era rapidamente anulada por bloqueantes alfa-adrenérgicos.

La inhibición, observada con mas frecuencia, parecia de-

pende de la estimulación de los adrenoceptores alfa y beta simultáneamente, siendo el último del tipo  $\beta_2$ . Por lo tanto esta inhibición no podía ser abolida ni por un bloqueante alfa-adrenérgico ni un bloqueante  $\beta_2$  adrenérgico solo, sino por los dos bloqueantes combinados.

Concluyeron pues, que la NA liberada endogenamente, bien por estimulación nerviosa o por la acción indirecta de aminas, afectaba principalmente a los alfa-adrenoceptores, mientras que la NA exógena actuaba sobre los adrenoceptores alfa y  $\beta_2$ .

Todos los datos existentes parecen indicar que el conducto deferente de cobayo no es un ejemplo típico de un órgano con inervación adrenérgica, a pesar de que posee una abundante provisión de nervios adrenérgicos y de que contiene mas noradrenalina que cualquier otro órgano por unidad de peso, con excepción de las glándulas suprarrenales.

En estudios hechos sobre conducto deferente de ratón, se encontró que al ser estimulado mediante la técnica de estimulación de campo, se liberaba noradrenalina (HENDERSON et al. 1972; JENKINS et al. 1975).

ADEBANJO y AMBACHE (1978), han estudiado las diferencias de distintas especies en cuanto a la neurotransmisión del conducto deferente, dividiendo estas según su comportamiento en tres grupos:

Grupo A: perro y caballo. La transmisión motora es predominantemente adrenérgica. Parece ser que esta sería la del deferente humano.

Grupo B: gato, rata y cobayo. La neurotransmisión es predominante-

mente no adrenérgica. En estas especies, el neurotrans-  
misor responsable de la respuesta contráctil sería una  
sustancia "X", aun no identificada, actuando la NA como  
inhibidor de la contractilidad.

Grupo C: ratón y conejo. Intermedia entre las dos anteriores.



JUSTIFICACION DEL TEMA

El papel de los receptores alfa y beta presinápticos en la modulación de la liberación de noradrenalina ha sido descrito por distintos autores en diversos tipos de preparaciones (LANGER, et al. 1970,1975,1976,1977, ADLER et al. 1975, STJARNE et al. 1975,1976, HEDQVIST et al. 1976, von EULER et al. 1975).

En el conducto deferente si bien la noradrenalina no es el neurotransmisor responsable de la respuesta contráctil, si tiene una misión importante en la modulación de dicha respuesta, comportandose como neurotransmisor inhibidor, como indican diversos autores (HOLMAN et al. 1964, HOTTA, 1969, AMBACHE et al. 1971, HEDQVIST et al. 1975, ADEBAJO et al. 1978, LORENZO et al. 1978).

Según la teoria de ADEBANJO y AMBACHE (1978) la neurotransmisión en el conducto deferente de cobayo y rata es predominantemente no adrenérgica. En ambas especies la noradrenalina actuaría como inhibidor de la contractilidad y el neurotransmisor responsable de la respuesta contráctil sería la sustancia "X" que en el cobayo actuaría como neurotransmisor inhibidor, lo cual hace que el conducto deferente de cobayo sea una preparación ideal para el estudio de la modulación a través de los beta-adrenoceptores presinápticos en la neurotransmisión; mientras que en la rata el neurotransmisor "X" actuaría como excitador. Por otra parte, como el conducto deferente aislado de rata contiene casi exclusivamente receptores alfa, careciendo practicamente de receptores beta postsinápticos (LAPORTE et al. 1966 y LANDS et al. 1967), puede usarse para el estudio de los receptores alfa-presinápticos.

El conducto deferente de ratón por ser la neurotransmi-

sión intermedia entre la adrenérgica y la no adrenérgica, y no existir en la actualidad muchos datos de ella, es un modelo a considerar para ser estudiado.

Recientes trabajos han puesto en entredicho la hipótesis del receptor presináptico. Se ha observado que la fenoxibenzamina aumenta el sobflujó del transmisor y la respuesta mecánica en el conducto deferente de cobayo, después de su estimulación con un único pulso, condición que anula la participación de un sistema de inhibición del receptor presináptico (KALSNER, 1979a). La noradrenalina liberada por un único pulso no puede inhibir retroactivamente la liberación y por lo tanto el bloqueo de un sistema regulatorio de ret.alim. por fenoxibenzamina no puede aumentar el flujo. Adicionalmente CHAN y KALSNER (1979a) encontraron que el efecto de la fenoxibenzamina para incrementar el flujo del transmisor no está ligada simplemente por un bloqueo de un mecanismo de feedback negativo por la noradrenalina liberada endogenamente mediante la inhibición de la liberación subsecuente.

Así mismo KALSNER (1979b) usando noradrenalina exógena y enoxibenzamina, usando diferentes número de pulsos, observó que ni los efectos del agonista, ni los del antagonista estaban de acuerdo con un sistema de ret.alim. negativo alfa-presináptico.

KALSNER y CHAN (1979) usando diferentes antagonistas alfa en conejo, deducen que su efectividad no está relacionada con ningún mecanismo presináptico sino con un proceso aun no identificado. Utilizando los beta bloqueantes: isoprenalina y propranolol, KALSNER (1980) llega a la conclusión de que tampoco está claro el mecanismo de ret.alim. positivo, mediado por receptores

beta presinápticos.

A estas teorías se les puede objetar, el hecho de que por ejemplo, las concentraciones empleadas eran excesivamente altas, del orden de  $10^4$  veces mayor que las requeridas para implicar acciones presinápticas. En segundo lugar, no se interpreta desde el punto de vista de las características específicas de la neurotransmisión en conducto deferente de cobayo (la noradrenalina se comporta como neurotransmisor inhibidor) en lo que se refiere a respuesta contráctil, puesto que si la tuviese en cuenta, observaría que corresponde a una acción postsináptica.

Por tanto, a la vista de la polémica existente, sería interesante intentar aclarar definitivamente la modulación de la transmisión en el conducto deferente.

## MATERIAL Y METODOS

## 1. MATERIALES.

### I) Animales de experimentación.

Como animales de experimentación hemos utilizado:

- Ratas Sprague-Dawley, machos, de pesos comprendidos entre 200-300 g.
- Cobayos, machos, de pesos comprendidos entre 400-500 g.
- Ratones albinos, machos, de pesos comprendidos entre 30-40 g.

### II) Fármacos utilizados.

- Practolol HCl (Eraldin) (ICI-Farma).
- Clonidina (Catapresan) (Boehringer Shohl Ingelheim).
- Fenoxibenzamina HCl (Smith-Kline, Bruselas)
- Yohimbina HCl (Sigma).
- DL (7- $H^3$ ) Noradrenalina HCl (Radiochemical Centre, Amersham).  
(fig. 15)

### III) Aparatos utilizados.

- Contador de centelleo líquido Intertechnique SL 3000.
- Las contracciones se registraron mediante un transductor de fuerza-desplazamiento (GRASS FT03) en un polígrafo GRASS modelo 79 y un recorder Houston modelo Omniscribe.
- La estimulación se realizó mediante un estimulador GRASS SD9.

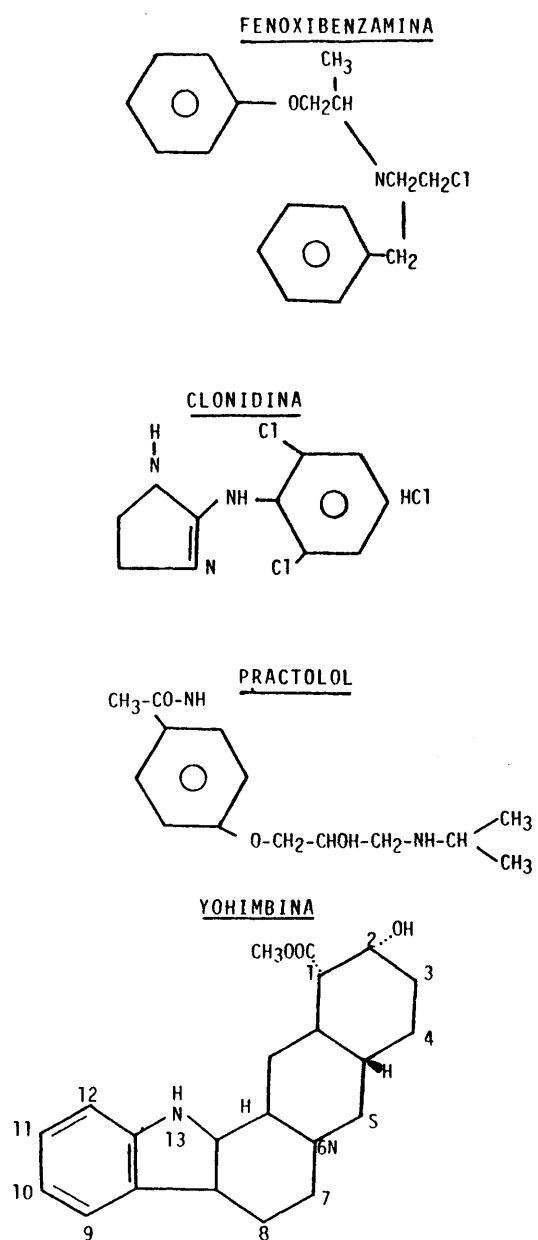


Figura 15

## 2. MÉTODOS.

### 1) Conducto deferente estimulación eléctrica de campo.

Este método se basa en la técnica de AMBACHE y ZAR (1971).

Los animales se sacrifican golpeándolos en la región cervical-occipital, sangrándolos a continuación por sección del paquete vascular del cuello. Posteriormente se practica una laparotomía mediante una incisión en forma de "V". Apartando el paquete intestinal, se extraen los testículos de las bolsas escrotales, separando los conductos deferentes mediante un corte en la parte epididimal y otro corte en su unión con la uretra.

Una vez separados de los testículos, los conductos deferentes se colocan en una placa de PETRI conteniendo solución KREBS a temperatura ambiente. Seguidamente, se procede a limpiarlos de adherencias separando la vaina del tejido conectivo que los envuelve. Esta operación es de suma importancia, ya que como describieron SJOSTRAND (1965) y FERRY (1967) existen terminaciones ganglionares dentro del tejido conectivo que envuelve al conducto deferente, las cuales pueden poner en marcha un mecanismo ganglionar al estimular el conducto deferente que pueden alterar los resultados obtenidos. Los conductos deferentes una vez libres de adherencias se anudan por ambos extremos, y se procede a su colocación en el baño de órganos, dentro de una copa de 2 ml de capacidad que contiene en su interior dos electrodos verticales de Platino-Iridio.



El conducto deferente se coloca dentro de la copa de tal forma que la porción epididimal quede conectada con la palanca isotónica de inscripción tangencial del quimógrafo. En el caso del deferente de ratón hay que colocar un peso de 2 g. sobre la palanca isotónica, para obtener la tensión adecuada para producir respuesta a la estimulación.

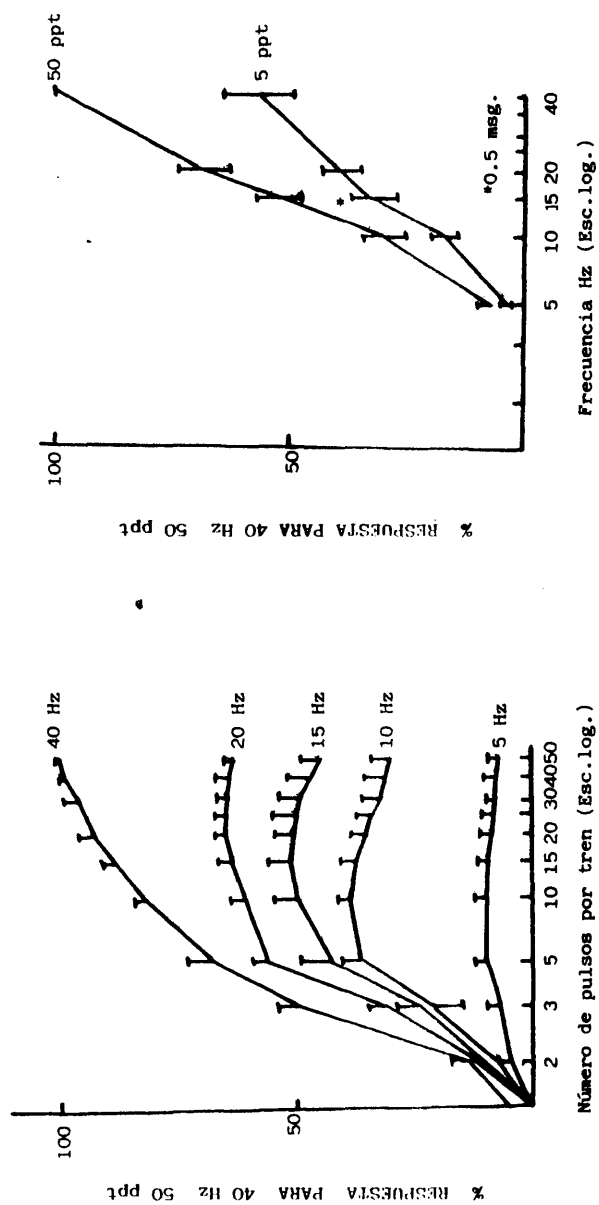
A la copa donde está introducido el conducto deferente se hace llegar por perfusión continua, a un ritmo de 60 gotas/minuto, solución Krebs cuya composición mM es: NaCl: 118, KCl: 4,75; CaCl: 2,5;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ : 1,19;  $\text{NaHCO}_3$ : 25;  $\text{MgSO}_4$ : 1,2; glucosa: 5,5. También es gaseada con mezcla carbógena (95%  $\text{O}_2$  y 5%  $\text{CO}_2$ ). El baño de órganos se mantiene a 35°C.

#### Estudio de los parámetros de estimulación en el conducto deferente.

Se realizaron una serie de experimentos encaminados a obtener los parámetros de estimulación del conducto deferente de ratón en nuestro laboratorio, (en cobayo y rata, se utilizaron los datos obtenidos por AMBACHE y ZAR, 1971).

- A) En una serie de estos experimentos se modificó la frecuencia de estimulación, de 5 a 40 Hz y el número de pulsos por tren de 1 a 30 ó 50 (ratón) (Fig. 16), permaneciendo constante el voltaje supramáximo, la duración de 1 msec y los intervalos de estimulación de 1 min.
- B) En otro grupo de experimentos se estudiaron las respuestas contráctiles inducidas por estimulación de campo, en la que

FIGURA 16



se modificaron las frecuencias de estimulación, de 5 a 40 Hz, con dos tipos de pulsos por tren, 5 y 50, permaneciendo constante el voltaje supramáximo, la duración de 1 msec y los intervalos de estimulación de 1 min. (Fig. 16).

C) Asimismo, se determinó la diferencia en las respuestas contractiles cuando se modificó la duración del impulso (0,5 a 2 msec) con voltaje supramáximo, frecuencia 15 Hz y 5 pulsos por tren a intervalos de estimulación de 1 min. (Fig. 16).

## II) Determinación de la liberación de Na-H<sup>3</sup> en conducto deferente.

Este método es una modificación de las técnicas de HUGHES (1978) y KALSNER (1979a).

Una vez extraídos los conductos deferentes, se incuban durante 60 min en 1 ml de solución KREBS conteniendo (DL-7-<sup>3</sup>H)-noradrenalina (10 uCi/ml) manteniéndolos a 35°C y gaseados con mezcla carbógena.

El radioisótopo (DL-7-<sup>3</sup>H)-Noradrenalina (actividad específica 10 Ci/mmol) fue diluido a una concentración stock de 100 uCi/ml a la que se le añadió ácido ascórbico (50 ug/ml), la cual se almacena a 4°C en cantidad máxima de 10 ml.

Para obtener una concentración final de 10 uCi/ml en el medio de incubación, se toman 0,1 ml de la solución stock al que se le añaden 0,9 ml de solución KREBS. Esta cantidad de 1 ml es suficiente para bañar completamente los conductos deferentes.

Una vez terminada la incubación, se procede al montaje de los conductos deferentes en la copa del baño de órganos, se-

gún la técnica anteriormente descrita. Se mantiene durante 60-90 min el lavado de la preparación con KREBS, al cabo de los cuales se obtiene una estabilidad en el número de cuentas por minuto (c.p.m.) de la preparación.

Posteriormente se procede a la estimulación de la preparación con los parámetros descritos en la técnica de estimulación de campo.

#### Determinación del flujo de (<sup>3</sup>H)-Noradrenalina.

Para la toma de muestras fue necesario diseñar una especie de camisa de vidrio para la copa que contenía la preparación, que permitiera recoger el fluido que se producía durante toda la experimentación (Fig. 17 ).

El protocolo seguido para la determinación del flujo de (<sup>3</sup>H)-Noradrenalina consistía en dar un solo estímulo (variando las características, según las calculadas como óptimas para cada especie estudiada), y volver a repetirlo cada 15 min. En respuesta a cada uno de los estímulos se producía una contracción de la preparación.

En el periodo anterior a cada estímulo se toman tres muestras de 3 ml. cada una de las cuales constituye el flujo de la preparación obtenido durante 3 min. denominándose Resting Overflow (R).

En el momento de la estimulación, se recoge una muestra de 1 ml directamente de la copa mediante una jeringa, la cual se denomina Electrically Evoked Overflow (S).

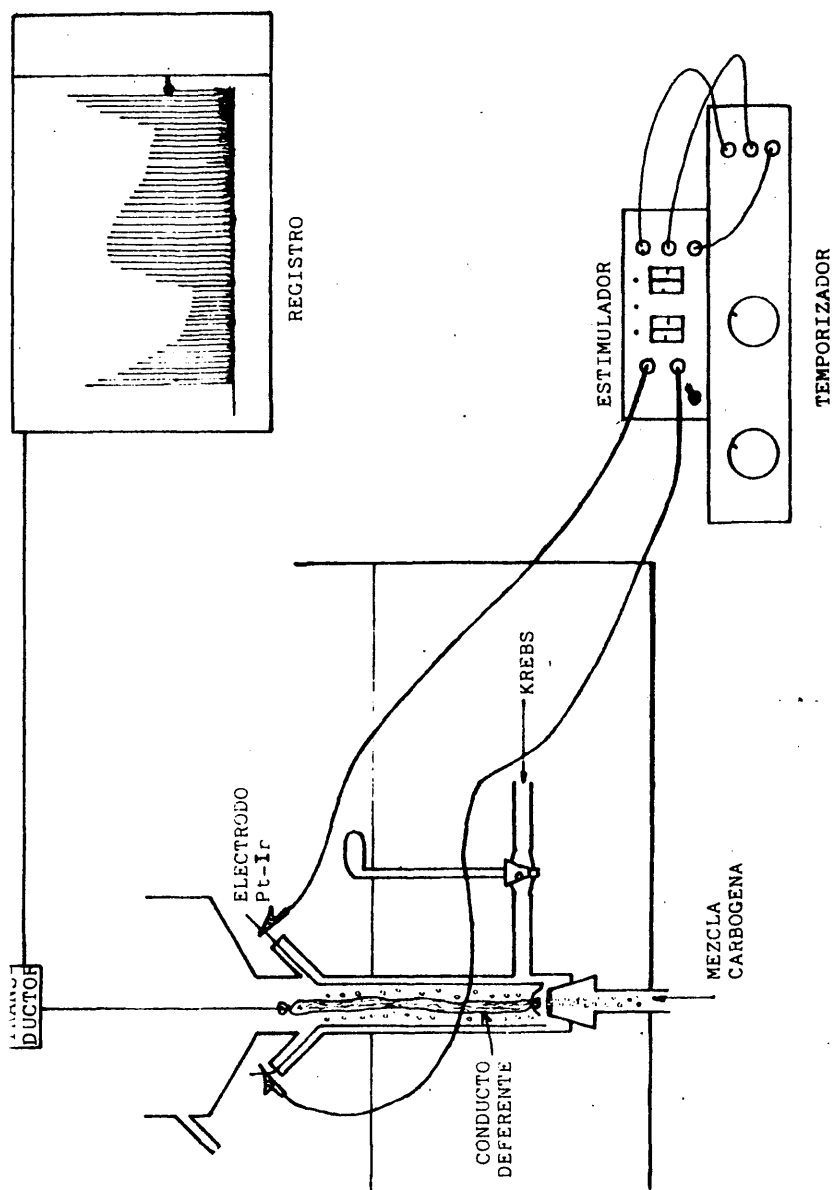


Figura 12- Método experimental utilizado en nuestro Laboratorio para el estudio de la neurotransmisión en el conducto deferente de distintas especies animales.

De cada una de las muestras de líquido de perfusión se toman 0,5 ml que son transferidos a un vial de 3 cc. de capacidad, conteniendo 2 ml de líquido de centelleo PCS (Amersham), y que son contados durante 4 min con 1% de error en un contador de centelleo líquido, dándonos las lecturas en c.p.m.

#### Evaluación de datos.

En todos los experimentos, las dos primeras muestras del Electrically Evoked Overflow ( $S_1$  y  $S_2$ ) se obtienen cuando solo pasa por la preparación solución KREBS. Por observarse que el overflow del trítio obtenido en el primer periodo de estimulación eléctrica ( $S_1$ ) era variable (igual que lo observado por HUGHES, 1978), y que a menudo era considerablemente mayor que el overflow obtenido en subsiguientes periodos de estimulación, fue descartado en la posterior realización de los cálculos. Al  $S_2$  se le va a considerar como el control y se le da un valor de 100% de respuesta. Los siguientes pulsos se obtienen ya pasando fármaco en perfusión durante los 15 min ó bien solo KREBS cuando se trata de calcular controles para comparación de efectos. Todos ellos se refieren en % al  $S_2$ .

De las tres muestras que constituyen el Resting Overflow se halla la media y se refiere también en % el valor de  $S_2$ .

### III) Estadística.

Los resultados obtenidos fueron valorado estadística-mente de la forma siguiente: Se agrupan los datos experimentales según los distintos grupos y los diferentes parámetros medidos. De cada experimento se calculó la media, la desviación standard y el error standard de la media, según las siguientes fórmulas:

$$\text{MEDIA} \dots\dots\dots \bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n f_i x_i}{N}$$

$$\text{DESVIACION STANDARD} \dots\dots\dots S = \frac{\sum_{i=1}^n f_i (x_i - \bar{x})^2}{N}$$

$$\text{ERROR STANDARD DE LA MEDIA} \dots\dots\dots \text{E.S.M.} = \frac{s}{n}$$

La significación estadística de los distintos grupos se efectuó utilizando el test de Student. De esta forma calculamos el valor "t" según la fórmula siguiente:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{1/N_1 + 1/N_2}}$$

donde:

$$\sigma = \frac{N_1 s_1^2 + N_2 s_2^2}{N_1 + N_2 - 2}$$

Siendo el número de grados de libertad igual a:  
 $N_1 + N_2 - 2$ . Este valor "t" observado en la tabla de distribución de Student con  $N_1 + N_2 - 2$  grados de libertad nos da el valor "P" de significación. Considerábamos significativa la diferencia para valores  $P < 0.05$ .



## RESULTADOS

1. EFECTOS DE LOS AGONISTAS ALFA<sub>2</sub> ADRENERGICOS, SOBRE LA LIBERACION DE <sup>3</sup>H-NA Y RESPUESTA CONTRACTIL EN CONDUCTO DEFERENTE DE RATA Y RATON.

1.1. Efectos de la CLONIDINA (5.10<sup>-12</sup>M, 5.10<sup>-10</sup>M y 5.10<sup>-8</sup>M sobre conducto deferente de rata. (Fig.18)

1.1.1. Respuesta mecánica.

La clonidina a la dosis de 5.10<sup>-8</sup>M produce, con respecto a los valores control, una disminución de la respuesta mecánica de conducto deferente de rata  $P < 0.001$ .

1.1.2. Liberación de <sup>3</sup>H-NA evocada por estímulo eléctrico.

La clonidina a todas las dosis estudiadas, inhibe la liberación de <sup>3</sup>H-NA evocada por estímulo eléctrico, si bien esta disminución solo es significativa ( $P < 0.05$ ) para la concentración de 5.10<sup>-12</sup>M.

1.1.3. Flujo de <sup>3</sup>H-NA en los periodos interestimulación.

A ninguna de las dosis estudiadas, se observaron variaciones significativas sobre el flujo de <sup>3</sup>H-NA en los periodos interestimulación, con respecto al control.

1.1.4. Incremento de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA con respecto al flujo remanente en el periodo previo a la estimulación (Fig. 19).

A todas las dosis estudiadas de clonidina se observa una disminución en el incremento de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA respecto al flujo remanente en el periodo previo a la estimulación.

FIGURA 18

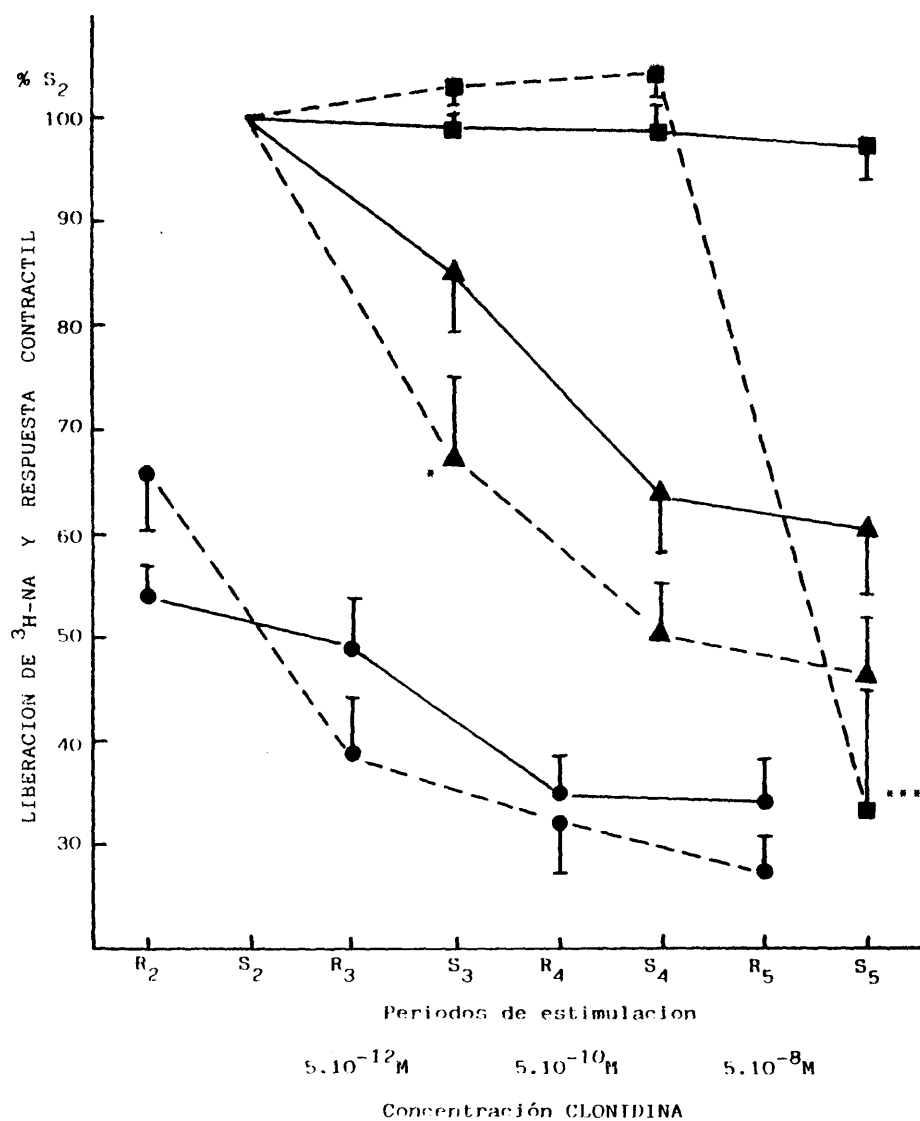


Fig. 18.- Representación gráfica de los efectos de la CLONIDINA ( $5 \cdot 10^{-12} \text{M}$ ,  $5 \cdot 10^{-10} \text{M}$ ,  $5 \cdot 10^{-8} \text{M}$ ) sobre las respuestas contráctiles del conducto deferente de rata inducidas por estimulación eléctrica de campo, flujo de  $^3\text{H-NA}$  sin evocar y flujo de  $^3\text{H-NA}$  evocado por estímulo eléctrico. La estimulación se realiza con los siguientes parámetros:  $\text{Fr} = 10 \text{ Hz}$ , voltaje supramáximo, duración 1 mseg, a 8 pulsos por tren a intervalos de 15 min., denominándose cada periodo de estimulación  $\text{S}_1, \text{S}_2, \text{S}_3, \text{S}_4$  y  $\text{S}_5$ . En el eje de ordenadas: % de la respuesta del periodo de estimulación  $\text{S}_2$ . En el eje de abscisas los periodos de estimulación y concentración de CLONIDINA ( $n=8$ ). Las barras verticales representan el ESM  $*P < 0.005$ ,  $**P < 0.001$ ,  $***P < 0.001$ . Representación gráfica de las respuestas control (—) y del efecto de la Clonidina (----).

(■) Respuesta mecánica.  
 (▲) Flujo de  $^3\text{H-NA}$  evocado por estímulo eléctrico, S.  
 (●) Flujo de  $^3\text{H-NA}$  sin evocar, R.

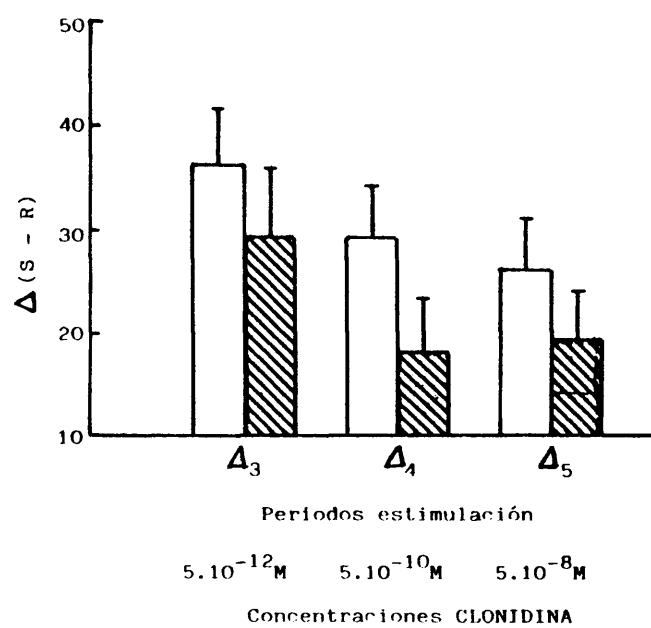


FIGURA 19

Fig.19.- Representación gráfica de los incrementos ( $\Delta$ =S-R) de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA con respecto al flujo remanente en el periodo previo a la estimulación, debidos a la CLONIDINA, en el conducto deferente de rata.

En el eje de ordenadas  $\Delta$  = S - R.

En el eje de abscisas los periodos de estimulación y concentraciones de clonidina (n=8).

(□) Respuesta control.

(▣) Respuesta con clonidina.

1.2. Efectos de la CLONIDINA ( $5.10^{-12}$  M a  $5.10^{-8}$  M) sobre conducto deferente de ratón. (Fig.20)

1.2.1. Respuesta Mecánica.

La clonidina a la dosis de  $5.10^{-8}$  M produce, con respecto a los valores control, una disminución de la respuesta mecánica de conducto deferente de ratón ( $P < 0.001$ ).

1.2.2. Liberación de  $^3\text{H}$ -NA evocada por estímulo eléctrico.

La clonidina a todas las dosis estudiadas, inhibe la liberación de  $^3\text{H}$ -NA evocada por estímulo eléctrico, siendo esta disminución significativa ( $P < 0.05$ ) para las dosis de  $5.10^{-12}$  M y  $5.10^{-8}$  M.

1.2.3. Flujo de  $^3\text{H}$ -NA en los periodos interestimulación.

A ninguna de las dosis estudiadas, se observaron variaciones significativas sobre el flujo de  $^3\text{H}$ -NA en los periodos interestimulación, con respecto al control.

1.2.4. Incremento de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA con respecto al flujo remanente en el periodo previo a la estimulación (Fig.21)

A todas las dosis estudiadas de Clonidina se observa una disminución en el incremento de la



liberación de  $^3\text{H}$ -NA, siendo significativo  $P < 0.05$   
para la dosis de  $5 \cdot 10^{-12}\text{M}$ .

FIGURA 20

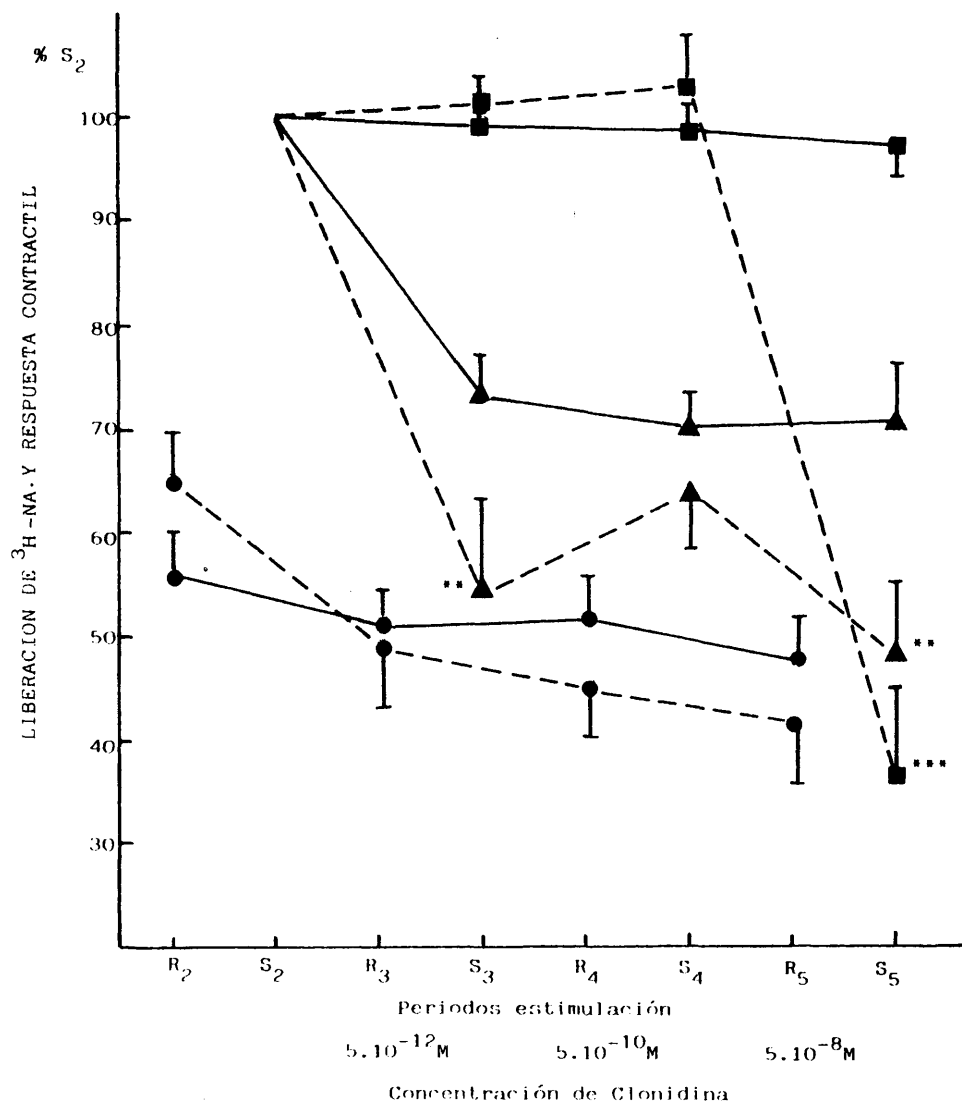


Fig.20.- Representación gráfica de los efectos de CLONIDINA ( $5 \cdot 10^{-12}M$ ,  $5 \cdot 10^{-10}M$ ,  $5 \cdot 10^{-8}M$ ) sobre las respuestas contráctiles del conducto deferente de ratón inducidas por estimulación eléctrica de campo, flujo de  $^3H$ -NA sin evocar y flujo de  $^3H$ -NA evocado por estímulo eléctrico. La estimulación se realiza con los siguientes parámetros: Fr = 15 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 mseg, a 10 pulsos por tren a intervalos de 15 min., denominándose cada periodo de estimulación: S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>, S<sub>4</sub> y S<sub>5</sub>. En el eje de ordenadas % de la respuesta del periodo de estimulación S<sub>2</sub>. En el eje de abscisas los periodos de estimulación y concentraciones de Clonidina (n=8). Las barras verticales representan el E.S.M. \*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001 Representación gráfica de las respuestas control (—) y del efecto de la Clonidina (---).

(■) Respuesta mecánica.  
 (▲) Flujo de  $^3H$ -NA evocado por estímulo eléctrico, S.  
 (●) Flujo de  $^3H$ -NA sin evocar, R.

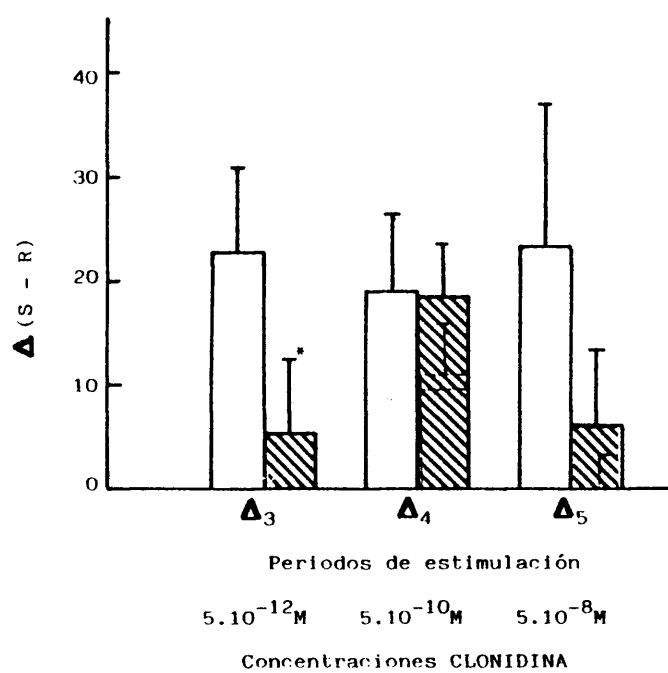


FIGURA 21

Fig.21.- Representación gráfica de los incrementos ( $\Delta$  = S-R) de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA con respecto al flujo remanente en el periodo previo a la estimulación, debidos a la CLONIDINA, en el conducto deferente de ratón.

En el eje de ordenadas  $\Delta$  = S - R.

En el eje de abscisas los periodos de estimulación y concentraciones de Clonidina (n=8).

Las barras verticales representan el E.S.M. \*P<0.05,

\*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001

(□) Respuesta control.

(■) Respuesta con Clonidina.

2. EFECTOS DE LOS BLOQUEANTES ALFA ADRENERGICOS SOBRE LA LIBERACION DE  $^3\text{H}$ -NA Y RESPUESTA CONTRACTIL EN CONDUCTO DEFERENTE DE RATA Y RATON.

2.1. Efectos de la FENOXIBENZAMINA ( $3.10^{-9}\text{M}$ ,  $3.10^{-7}\text{M}$ ,  $3.10^{-5}\text{M}$ ) sobre el conducto deferente de rata. (Fig.22).

2.1.1. Respuesta Mecánica.

A todas las dosis utilizadas la PBZ disminuye la respuesta mecánica de conducto deferente de rata, si bien se encuentra diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) a la menor dosis estudiada ( $3.10^{-9}\text{M}$ ).

2.1.2. Liberación de  $^3\text{H}$ -NA evocada por estímulo eléctrico.

La PBZ a todas las dosis estudiadas, produce un aumento de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA evocada por estímulo eléctrico, con arreglo a las siguientes significaciones:  $P < 0.01$  a las dosis de  $3.10^{-9}\text{M}$  y  $3.10^{-7}\text{M}$ .

2.1.3. Flujo de  $^3\text{H}$ -NA en los periodos interestimulación.

En el periodo anterior a la estimulación  $S_4$  que corresponde a la dosis de  $3.10^{-7}\text{M}$ , se observa un aumento significativo ( $P < 0.01$ ) en el flujo basal de  $^3\text{H}$ -NA.

2.1.4. Incremento de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA con respecto al flujo remanente en el periodo previo a la estimulación. (Fig.23)

En todos los casos se observa un aumento en el incremento de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA, siendo significativo  $P \leq 0.01$  a la concentración de  $3 \cdot 10^{-9}\text{M}$  y  $P \leq 0.05$  a la concentración de  $3 \cdot 10^{-5}\text{M}$ .

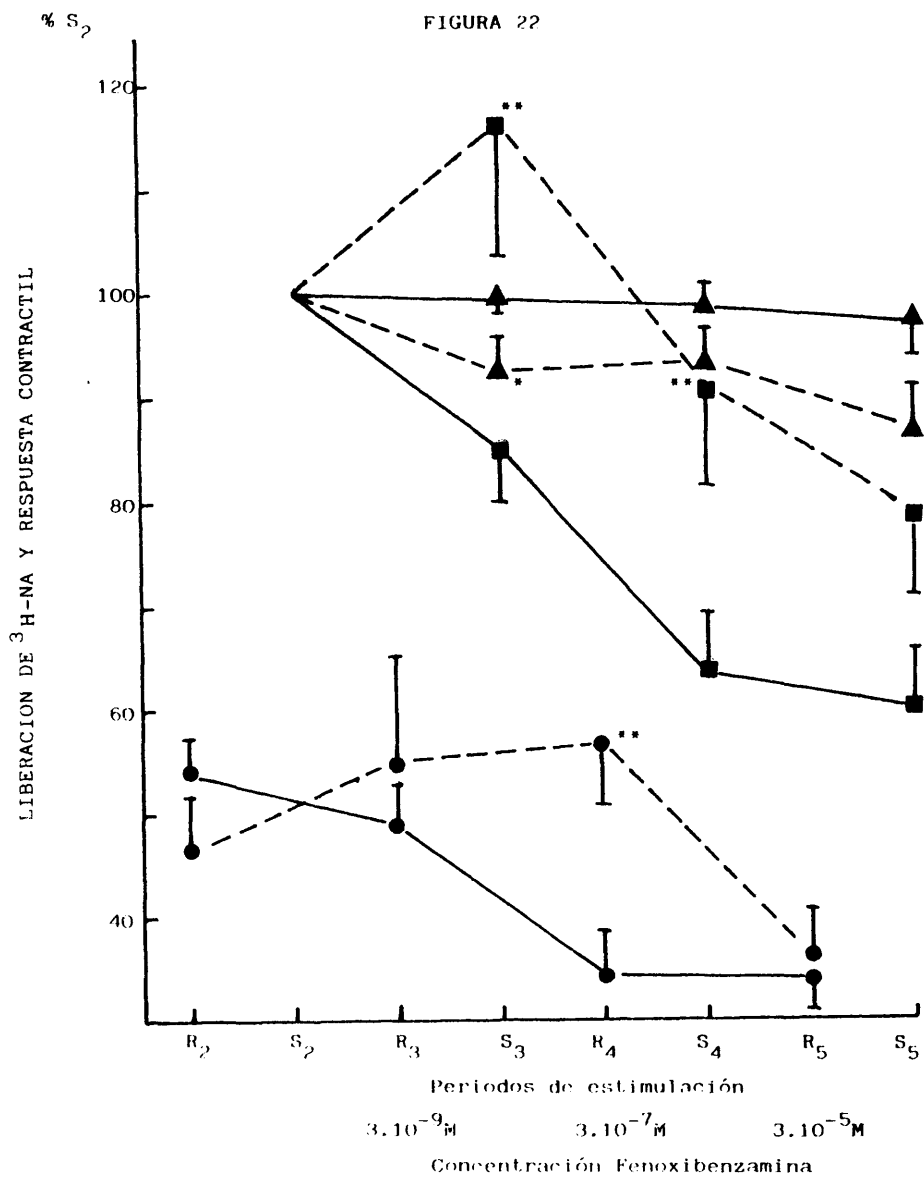




Fig.22.- Representación gráfica de los efectos de FENOXIBENZAMINA ( $3.10^{-9}M$ ,  $3.10^{-7}M$ ,  $3.10^{-5}M$ ) sobre las respuestas contráctiles de conducto deferente de rata inducidas por estimulación eléctrica de campo, flujo de  $^3H$ -NA sin evocar y flujo de  $^3H$ -NA evocado por estímulo eléctrico. La estimulación se realiza con los siguientes parámetros: Fr = 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 mseg, a 8 pulsos por tren a intervalos de estimulación:  $S_1, S_2, S_3, S_4$  y  $S_5$ .

En el eje de ordenadas % de la respuesta del período de estimulación  $S_2$ .

En el eje de abscisas los periodos de estimulación y concentraciones de FENOXIBENZAMINA (n=8). Las barras verticales representan el E.S.M. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

Representación gráfica de las respuestas control (—) y del efecto de la fenoxibenzamina (---).

(■) Respuesta mecánica.

(▲) Flujo de  $^3H$ -NA evocado por estímulo eléctrico, S.

(●) Flujo de  $^3H$ -NA sin evocar, R.

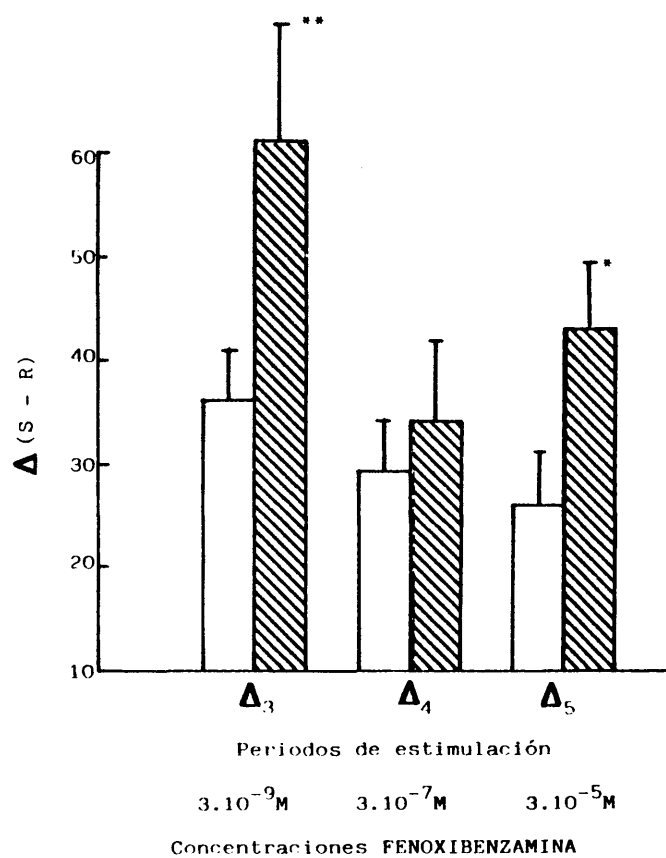


FIGURA 23

Fig. 23.- Representación gráfica de los incrementos ( $\Delta = S - R$ ) de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA con respecto al flujo remanente en el periodo previo a la estimulación, debidos a la FENOXIBENZAMINA, en el conducto deferente de rata.

En el eje de ordenadas  $\Delta = S - R$ .

En el eje de abscisas los periodos de estimulación y concentraciones de fenoxibenzamina (n=8).

Las barras verticales representan el E.S.M. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

(□) Respuesta control.

(■) Respuesta con fenoxibenzamina.

2.2. Efectos de la FENOXIBENZAMINA ( $3.10^{-9}M$ ,  $3.10^{-7}M$ ,  $3.10^{-5}M$ ) sobre conducto deferente de ratón. (Fig. 24).

2.2.1. Respuesta mecánica.

Con excepción de la menor de las dosis estudiadas ( $3.10^{-9}M$ ) la PBZ disminuye la respuesta mecánica de conducto deferente de ratón, encontrándose diferencia significativa ( $P < 0.01$ ) a la dosis de  $3.10^{-5}M$ .

2.2.2. Liberación de  $^3H$ -NA evocada por estímulo eléctrico.

La PBZ a la menor de las dosis estudiadas  $3.10^{-9}M$ , produce un aumento significativo ( $P = 0.05$ ) de la liberación de  $^3H$ -NA evocada por estímulo eléctrico, observándose a las dosis mayores una ligera disminución de dicha liberación.

2.2.3. Flujo de  $^3H$ -NA en los periodos interestimulación.

En el periodo anterior a la estimulación  $S_5$  que corresponde a la dosis de  $3.10^{-5}M$ , se observa una disminución significativa ( $P < 0.05$ ) en el flujo basal de  $^3H$ -NA.

- 2.2.4. Incremento de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA con respecto al flujo remanente en el periodo previo a la estimulación. (Fig. 25).

A todas las dosis estudiadas de fenoxibenzamina, se observa un aumento en el incremento de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA, siendo significativo  $P \leq 0.05$  a la concentración de  $3 \cdot 10^{-9}\text{M}$ .

FIGURA 24

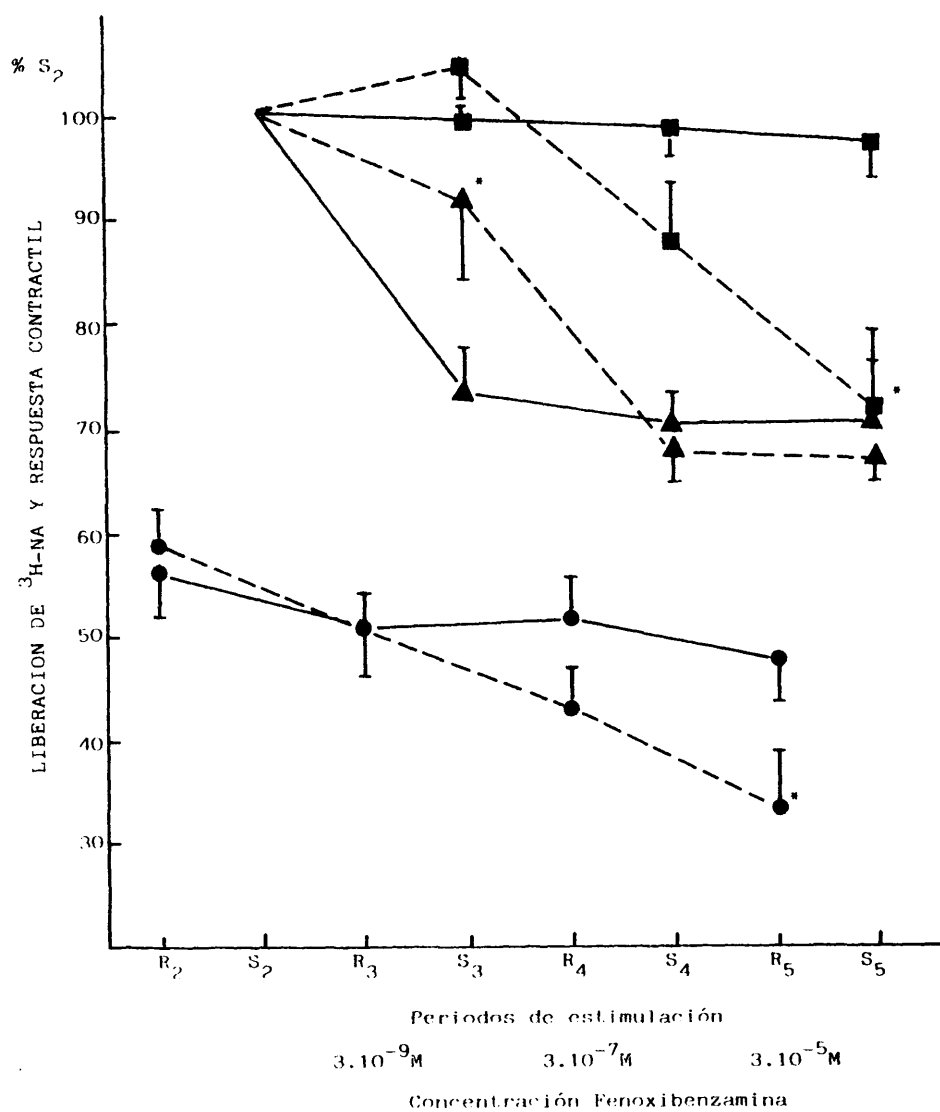


Fig. 24.- Representación gráfica de los efectos de FENOXIBENZAMINA ( $3.10^{-9}M$ ,  $3.10^{-7}M$ ,  $3.10^{-5}M$ ) sobre las respuestas contráctiles de conducto deferente de ratón inducidas por estimulación eléctrica de campo, flujo de  $^3H$ -NA sin evocar y flujo de  $^3H$ -NA evocado por estímulo eléctrico. La estimulación se realiza con los siguientes parámetros: Fr = 15 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 mseg. a 10 pulsos por tren e intervalos de 15 min., denominándose cada periodo de estimulación:  $S_1, S_2, S_3, S_4$  y  $S_5$ . En el eje de ordenadas % de la respuesta del periodo de estimulación  $S_2$ . En el eje de abscisas los periodos de estimulación y concentraciones de fenoxibenzamina (n=8). Las barras verticales representan el E.S.M. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

Representación gráfica de las respuestas control (—) y del efecto de fenoxibenzamina (---).

(■) Respuesta mecánica.  
 (▲) Flujo de  $^3H$ -NA evocado por estímulo eléctrico, S.  
 (●) Flujo de  $^3H$ -NA sin evocar, R.

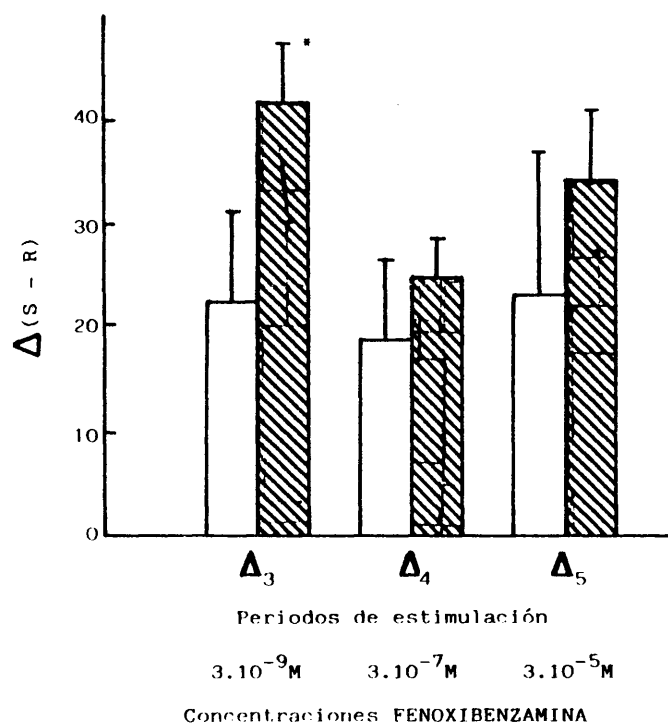


FIGURA 25



Fig.25.- Representación gráfica de los incrementos ( $\Delta = S - R$ ) de la liberación de  $^3\text{H-NA}$  con respecto al flujo remanente en el periodo previo a la estimulación, debidos a fenoxibenzamina, en el conducto deferente de ratón. En el eje de ordenadas  $\Delta = S - R$ . En el eje de abscisas los periodos de estimulación y concentraciones de fenoxibenzamina (n=8). Las barras verticales representan el E.S.M. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

(□) Respuesta control.  
 (▣) Respuesta con fenoxibenzamina.

2.3. Efectos de la YOHIMBINA ( $3,5 \cdot 10^{-9}M$ ,  $3,5 \cdot 10^{-7}M$ ,  $3,5 \cdot 10^{-5}M$ ) sobre conducto deferente de rata. (Fig. 26).

2.3.1. Respuesta mecánica.

A las mayores dosis estudiadas se observa un ligero aumento de la respuesta mecánica de conducto deferente de rata, no encontrándose significación en ningún caso.

2.3.2. Liberación de  $^3H$ -NA evocada por estímulo eléctrico.

Con excepción de la dosis  $3,5 \cdot 10^{-7}M$  se observó una disminución de la liberación de  $^3H$ -NA evocada por estímulo eléctrico.

2.3.3. Flujo de  $^3H$ -NA en los periodos interestimulación.

Se observa disminución del flujo basal de  $^3H$ -NA en todos los periodos previos a la estimulación eléctrica, excepto el previo al periodo  $S_4$  correspondiente a la dosis de  $3,5 \cdot 10^{-7}M$ .

2.3.4. Incremento de la liberación de  $^3H$ -NA con respecto al flujo remanente en el periodo previo a la estimulación. (Fig. 27).

No se observa ninguna significación a las dosis estudiadas de yohimbina en el incremento de la liberación de  $^3H$ -NA.

FIGURA 26

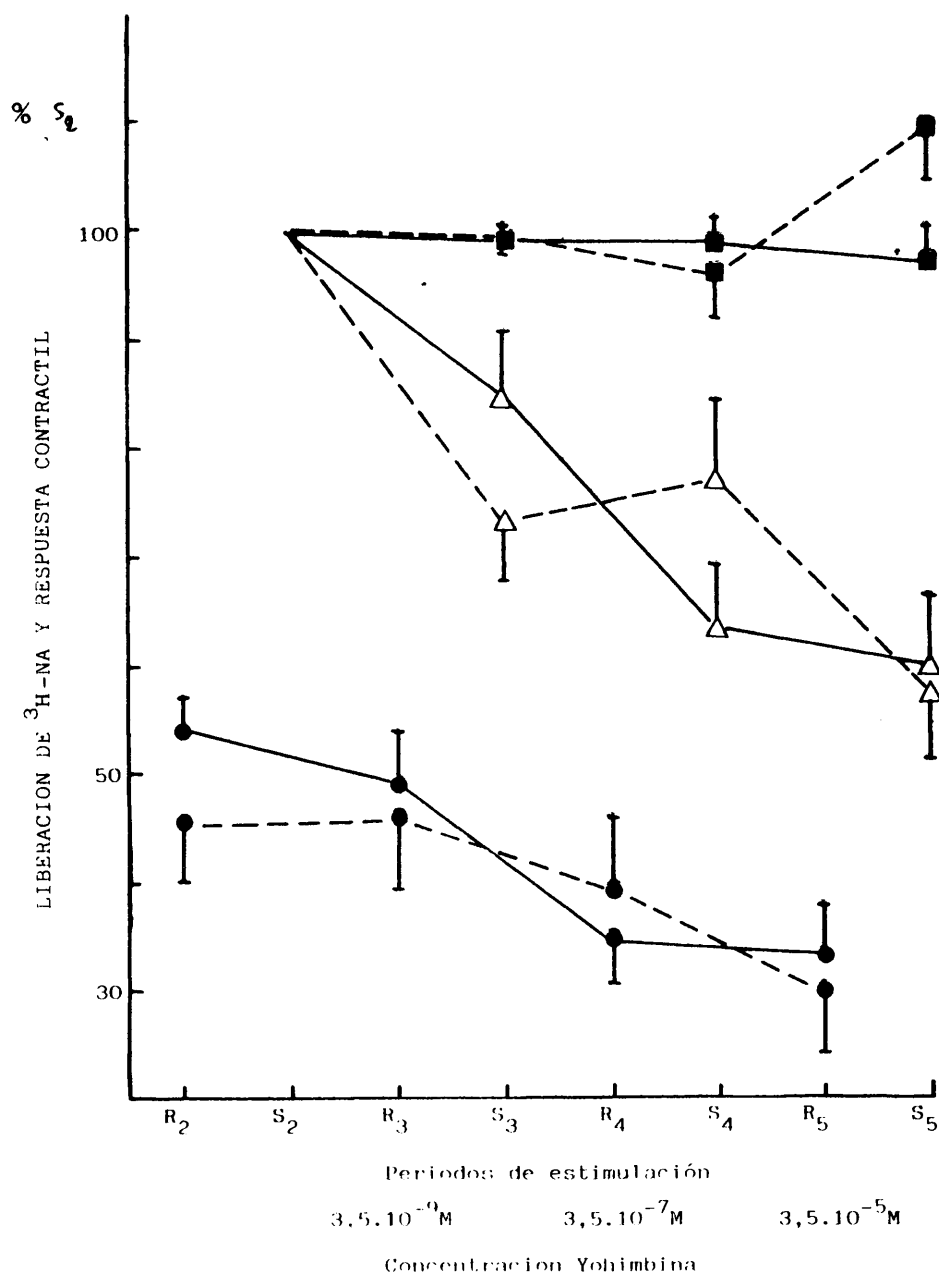


Fig.26.- Representación gráfica de los efectos de YOHIMBINA

( $3,5 \cdot 10^{-9}M$ ,  $3,5 \cdot 10^{-7}M$ ,  $3,5 \cdot 10^{-5}M$ ) sobre las respuestas contráctiles de conducto deferente de rata inducidas por estimulación eléctrica de campo, flujo de  $^3H$ -NA sin evocar y flujo de  $^3H$ -NA evocado por estímulo eléctrico. La estimulación se realiza con los siguientes parámetros:  $Fr = 10$  Hz, voltaje supramáximo, duración 1 mseg, a 8 pulsos por tren e intervalos de 15 min., denominándose cada periodo de estimulación:  $S_1, S_2, S_3, S_4$  y  $S_5$ . En el eje de ordenadas % de la respuesta del periodo de estimulación  $S_2$ .

En el eje de abscisas, los periodos de estimulación y concentraciones de yohimbina ( $n=8$ ). Las barras verticales representan el E.S.M. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

Representación gráfica de las respuestas control (—) y del efecto de yohimbina (---).

(■) Respuesta mecánica.

(▲) Flujo de  $^3H$ -NA evocado por estímulo eléctrico, S.

(●) Flujo de  $^3H$ -NA sin evocar, R.

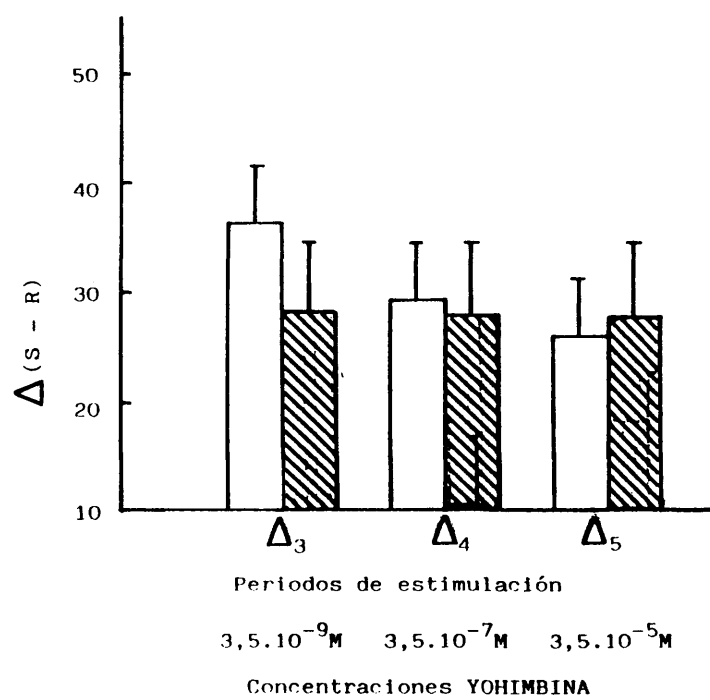


FIGURA 27

Fig.27 .- Representación gráfica de los incrementos ( $\Delta$  = S-R) de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA con respecto al flujo remanente en el periodo previo a la estimulación, debidos a Yohimbina, en el conducto deferente de rata.

En el eje de ordenadas  $\Delta$  = S - R.

En el eje de abscisas los periodos de estimulación y concentraciones de yohimbina (n=8).

Las barras verticales representan el E.S.M.

(□) Respuesta control.

(▨) Respuesta con yohimbina.

2.4. Efectos de la YOHIMBINA ( $3,5 \cdot 10^{-9}M$ ,  $3,5 \cdot 10^{-7}M$ ,  $3,5 \cdot 10^{-5}M$ ) sobre conducto deferente de ratón. (Fig. 28)

2.4.1. Respuesta mecánica.

A todas las dosis estudiadas de yohimbina aumenta la respuesta mecánica de conducto deferente de ratón, si bien se encuentran diferencias significativas ( $P < 0.01$ ) a la dosis de  $3,5 \cdot 10^{-7}M$  y  $3,5 \cdot 10^{-5}M$ .

2.4.2. Liberación de  $^3H$ -NA evocada por estímulo eléctrico.

La yohimbina a todas las dosis estudiadas excepto a la de  $3,5 \cdot 10^{-5}M$ , produce un aumento de la liberación de  $H^3$ -NA evocada por estímulo eléctrico.

2.4.3. Flujo de  $^3H$ -NA en los periodos interestimulación.

Se produce una disminución en el flujo basal de  $^3H$ -NA a todas las dosis estudiadas.

2.4.4. Incremento de la liberación de  $^3H$ -NA con respecto al flujo remanente en el periodo previo a la estimulación (Fig. 29).

No hay variación significativa a ninguna de las dosis estudiadas de yohimbina en el incremento de la liberación de  $^3H$ -NA

FIGURA 28

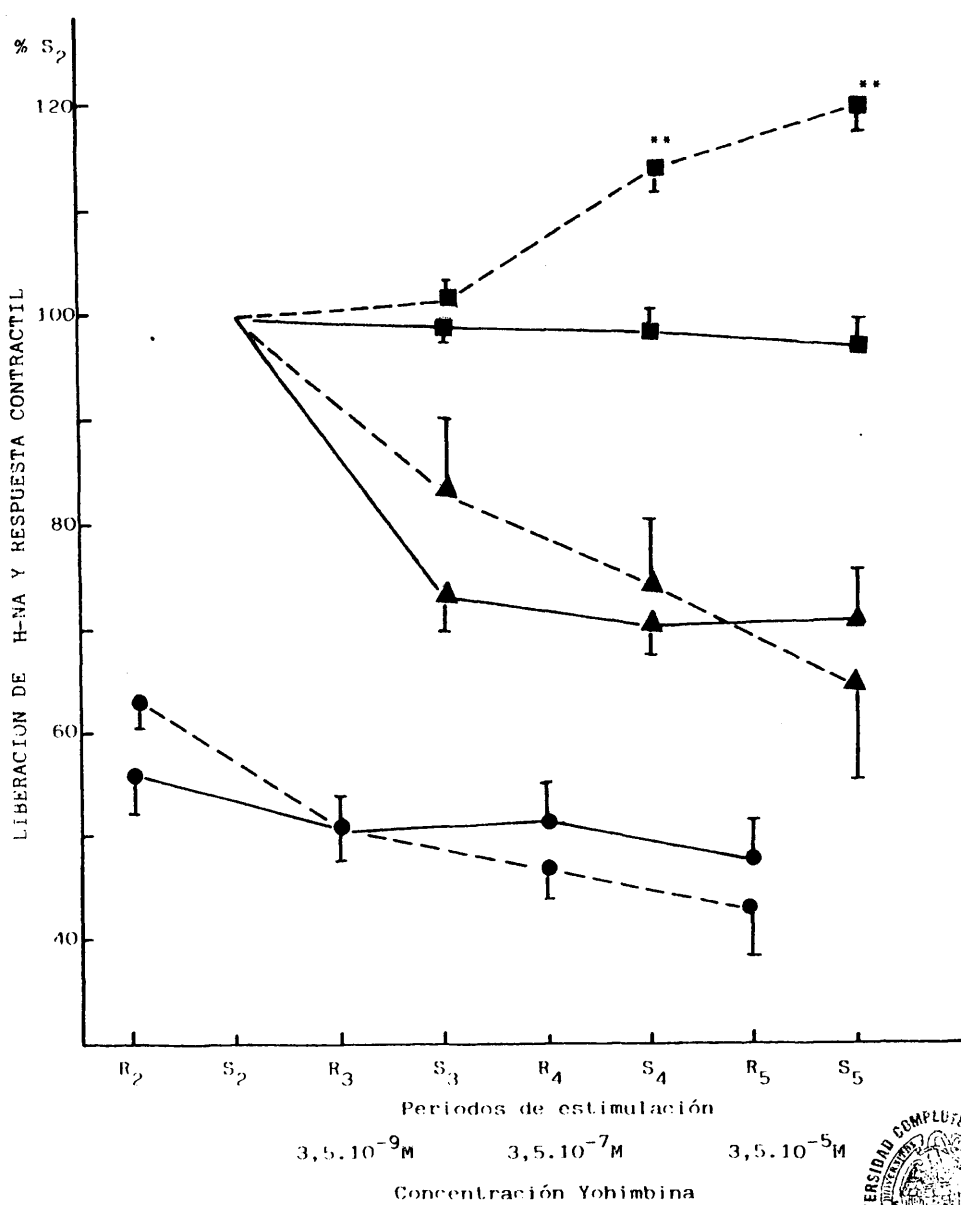




Fig. 28.- Representación gráfica de los efectos de YOHIMBINA ( $3,5 \cdot 10^{-9}M$ ,  $3,5 \cdot 10^{-7}M$ ,  $3,5 \cdot 10^{-5}M$ ) sobre las respuestas contráctiles del conducto deferente de ratón, inducidas por estimulación eléctrica de campo, flujo de  $^3H$ -NA sin evocar y flujo de  $^3H$ -NA evocado por estímulo eléctrico. La estimulación eléctrica se realiza con los siguientes parámetros: Fr = 15 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 mseg., a 10 pulsos por tren e intervalos de 15 min., denominándose cada periodo de estimulación:  $S_1, S_2, S_3, S_4$  y  $S_5$ .

En el eje de ordenadas % de la respuesta del periodo de estimulación  $S_2$ .

En el eje de abscisas los periodos de estimulación y concentraciones de yohimbina (n=8). Las barras verticales representan el E.S.M. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

Representación gráfica de las respuestas control (—) y del efecto de yohimbina (---).

(■) Respuesta mecánica.  
 (▲) Flujo de  $^3H$ -NA evocado por estímulo eléctrico, S.  
 (●) Flujo de  $^3H$ -NA sin evocar, R.

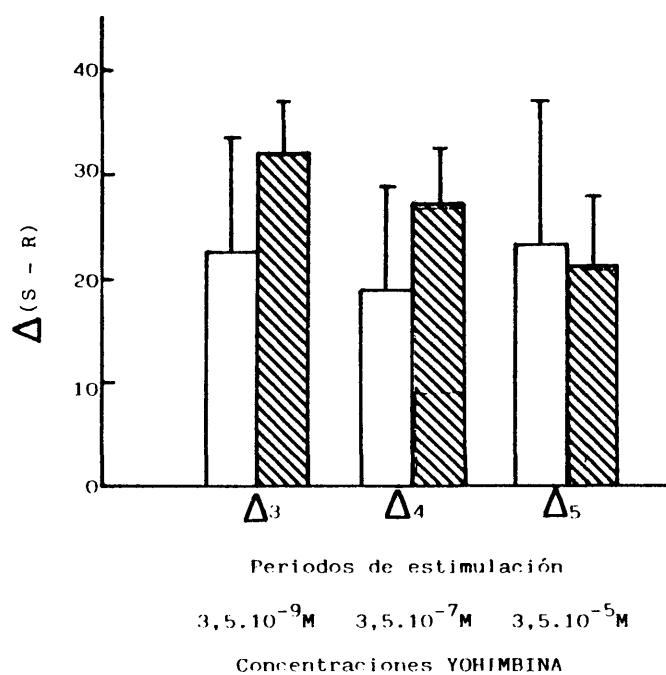


FIGURA 29

Fig. 29.- Representación gráfica de los incrementos ( $\Delta = S - R$ ) de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA con respecto al flujo remanente en el período previo a la estimulación, debidos a yohimbina, en el conducto deferente de ratón. En el eje de ordenadas  $\Delta = S - R$ . En el eje de abscisas los períodos de estimulación y concentraciones de yohimbina (n=8). Las barras verticales representan el E.S.M.

(□) Respuesta control.

(■) Respuesta con yohimbina.

3. EFECTOS DE LOS BLOQUEANTES BETA ADRENERGICOS SOBRE LA LIBERACION DE  $^3\text{H}$ -NA Y RESPUESTA CONTRACTIL EN CONDUCTO DEFERENTE DE RATA Y COBAYO.

3.1. Efectos del PRACTOLOL ( $8 \cdot 10^{-8}\text{M}$ ,  $2 \cdot 10^{-7}\text{M}$ ,  $8 \cdot 10^{-7}\text{M}$ ) sobre conducto deferente de rata. (Fig. 30)

3.1.1. Respuesta mecánica.

Se observa un aumento de la respuesta mecánica de conducto deferente de rata a las mayores concentraciones estudiadas.

3.1.2. Liberación de  $^3\text{H}$ -NA evocada por estímulo eléctrico.

El practolol a las mayores dosis estudiadas, incrementa la liberación de  $^3\text{H}$ -NA evocada por estímulo eléctrico.

3.1.3. Flujo de  $^3\text{H}$ -NA en los periodos interestimulación.

A ninguna de las dosis estudiadas se observan variaciones significativas sobre el flujo de  $^3\text{H}$ -NA en los periodos interestimulación, con respecto al control.

3.1.4. Incremento de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA con respecto al flujo remanente en el periodo previo a la estimulación. (Fig. 31).

A ninguna de las dosis estudiadas de practolol, se obtiene una variación significativa en el incremento de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA.

FIGURA 30

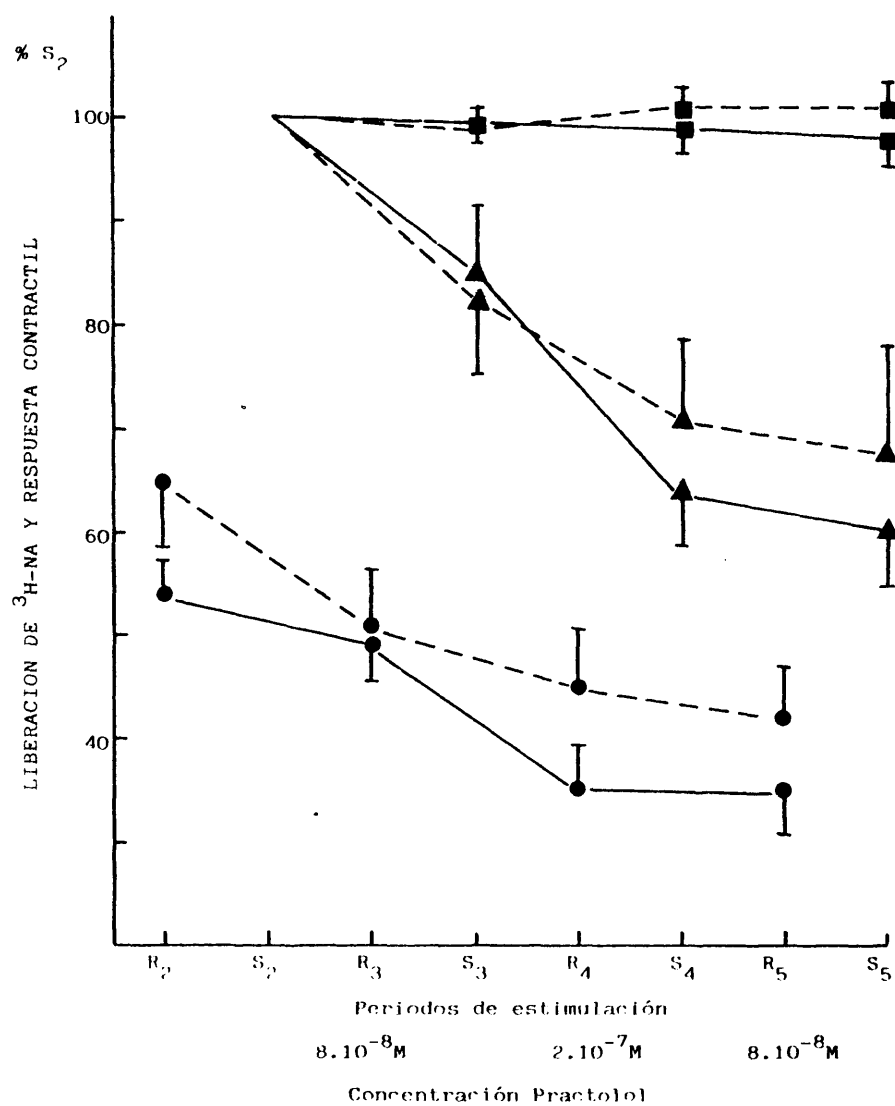


Fig. 30.- Representación gráfica de los efectos de PRACTOLOL ( $8 \cdot 10^{-8}M$ ,  $2 \cdot 10^{-7}M$ ,  $8 \cdot 10^{-7}M$ ) sobre las respuestas contráctiles del conducto deferente de rata inducidas por estimulación eléctrica de campo, flujo de  $^3H$ -NA sin evocar y flujo de  $^3H$ -NA evocado por estímulo eléctrico. La estimulación se realiza con los siguientes parámetros: Fr = 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 mseg, a 8 pulsos por tren e intervalos de 15 min., denominándose cada periodo de estimulación:  $S_1, S_2, S_3, S_4$  y  $S_5$ . En el eje de ordenadas % de la respuesta del periodo de estimulación  $S_2$ . En el eje de abscisas los periodos de estimulación y concentraciones de practolol ( $n=8$ ). Las barras verticales representan el E.S.M. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$ , \*\*\* $P \leq 0.001$ .

Representación gráfica de las respuestas control (—) y del efecto de practolol (----).

(■) Respuesta mecánica.  
 (▲) Flujo de  $^3H$ -NA evocado por estímulo eléctrico, S.  
 (●) Flujo de  $^3H$ -NA sin evocar, R.

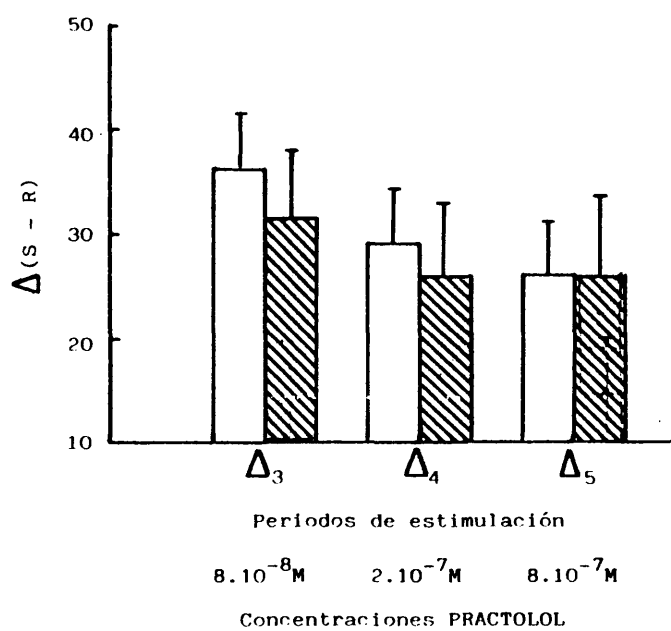


FIGURA 31



Fig. 31 .- Representación gráfica de los incrementos ( $\Delta = S - R$ ) de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA con respecto al flujo remanente en el periodo previo a la estimulación, debidos a Practolol, en el conducto deferente de rata.

En el eje de ordenadas  $\Delta = S - R$ .

En el eje de abscisas los periodos de estimulación y concentraciones de practolol (n=8).

Las barras verticales representan el E.S.M.

(□) Respuesta control.

(▣) Respuesta con practolol.

3.2. Efectos del PRACTOLOL ( $8.10^{-8}M$ ,  $2.10^{-7}M$ ,  $8.10^{-7}M$ ) sobre conducto deferente de cobayo. (Fig. 32)

3.2.1. Respuesta mecánica.

El Practolol a todas las dosis estudiadas produce, con respecto a los valores control, un aumento de la respuesta mecánica de conducto deferente de cobayo, siendo significativo ( $P < 0.05$ ) a las dosis de  $8.10^{-8}M$  y  $8.10^{-7}M$ .

3.2.2. Liberación de  $^3H$ -NA evocada por estímulo eléctrico.

El practolol inhibe la liberación de  $^3H$ -NA evocada por estímulo eléctrico a las dosis de  $8.10^{-8}M$  ( $P > 0.05$ ) y  $2.10^{-7}M$ , incrementando dicha liberación a la dosis de  $8.10^{-7}M$  ( $P < 0.05$ ).

3.2.3. Flujo de  $^3H$ -NA en los periodos interestimulación.

A todas las dosis estudiadas, se observa una disminución en el flujo basal de  $^3H$ -NA, siendo significativa ( $P < 0.01$ ) en el periodo anterior a la estimulación  $S_4$ , correspondiente a la dosis de  $2.10^{-7}M$ .

3.2.4. Incremento de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA con respecto al flujo remanente en el periodo previo a la estimulación. (Fig. 33).

A todas las dosis estudiadas de piractolol, se observa un aumento en el incremento de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA, siendo significativo  $P < 0.01$  para la dosis de  $8 \cdot 10^{-7}\text{M}$ .

FIGURA 32

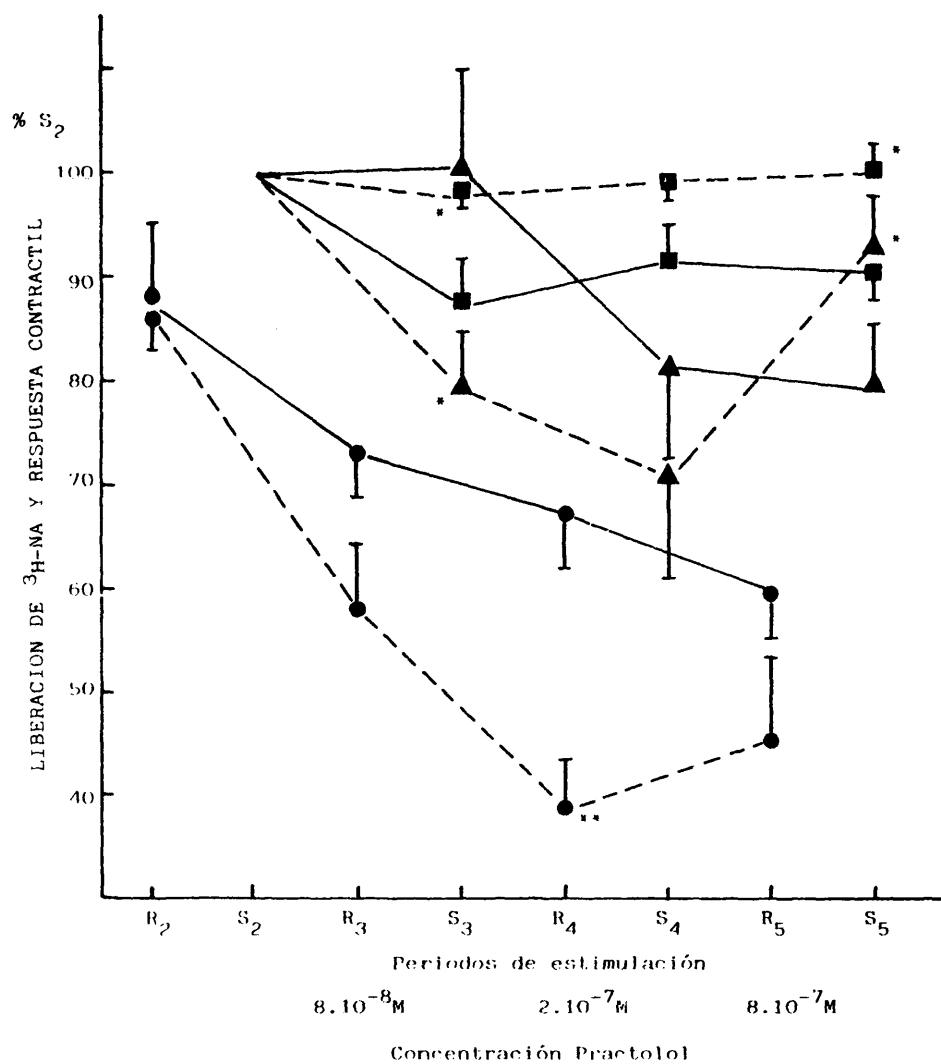


Fig. 32.- Representación gráfica de los efectos de PRACTOLOL ( $8.10^{-8}M$ ,  $2.10^{-7}M$ ,  $8.10^{-7}M$ ) sobre las respuestas contráctiles del conducto deferente de cobayo inducidas por estimulación eléctrica de campo, flujo de  $^3H$ -NA sin evocar y flujo de  $^3H$ -NA evocado por estímulo eléctrico. La estimulación se realiza con los siguientes parámetros: Fr = 15 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 mseg, a 10 pulsos por tren e intervalos de 15 min., denominándose cada periodo de estimulación:  $S_1, S_2, S_3, S_4$  y  $S_5$ .

En el eje de ordenadas % de la respuesta del periodo de estimulación  $S_2$ .

En el eje de abscisas los periodos de estimulación y concentraciones de practolol (n=8). Las barras verticales representan el E.S.M. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

Representación gráfica de las respuestas control (—) y del efecto del practolol (---).

(■) Respuesta mecánica.

(▲) Flujo de  $^3H$ -NA evocado por estímulo eléctrico, S.

(●) Flujo de  $^3H$ -NA sin evocar, R.

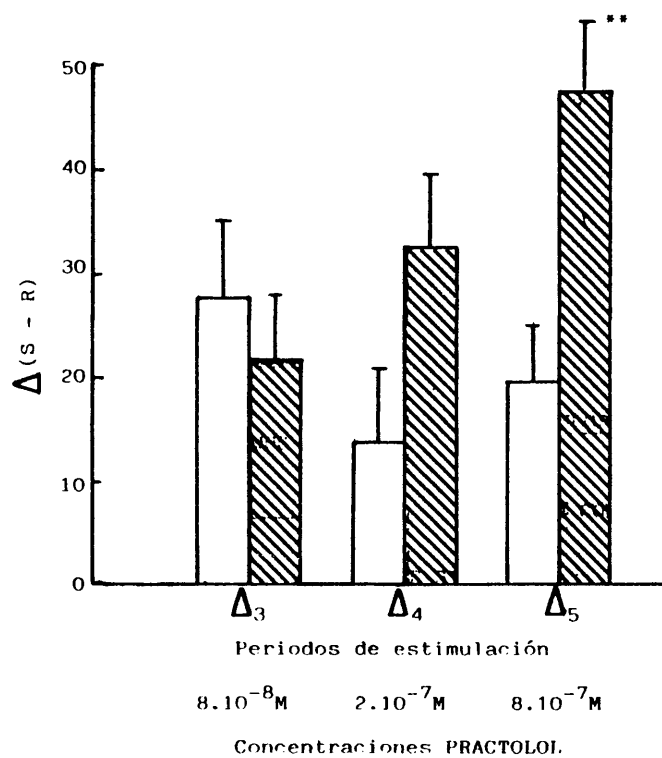


FIGURA 33

Fig. 33.- Representación gráfica de los incrementos ( $\Delta = S - R$ ) de la liberación de  $^3\text{H-NA}$  con respecto al flujo remanente en el periodo previo a la estimulación, debidos al PRACTOLOL, en el conducto deferente de cobayo.

En el eje de ordenadas  $\Delta = S - R$ .

En el eje de abscisas los periodos de estimulación y concentraciones de practolol (n=8).

Las barras verticales representan el E.S.M. \* $P < 0.05$

\*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

(□) Respuesta control.

(▣) Respuesta con practolol.

4. COMPARACION DE LOS EFECTOS DE LOS DISTINTOS FARMACOS (YOHIMBINA, FENOXIBENZAMINA, CLONIDINA Y PRACTOLOL) SOBRE LA RESPUESTA MECANICA Y LA LIBERACION DE  $^3\text{H}$ -NA EN CONDUCTO DEFERENTE DE DISTINTAS ESPECIES ANIMALES.

4.1. Efectos de los distintos fármacos sobre conducto deferente de rata.

4.1.1. Respuesta mecánica (Fig. 34)

La yohimbina a las mayores dosis estudiadas produce un aumento de la respuesta contráctil con respecto al control.

El practolol, produce un pequeño incremento en dicha respuesta a las mayores dosis.

La clonidina a la dosis de  $5 \cdot 10^{-8}\text{M}$  produce una disminución de la respuesta mecánica ( $P < 0.001$ )

La fenoxibenzamina a todas las dosis estudiadas disminuye la respuesta mecánica, siendo  $P = 0.05$  a la dosis de  $3 \cdot 10^{-9}\text{M}$ .

4.1.2. Liberación de  $^3\text{H}$ -NA evocada por estímulo eléctrico. (Fig. 35).

La fenoxibenzamina produce un incremento de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA evocada por estímulo eléctrico, a todas las concentraciones estudiadas, siendo  $P < 0.05$  a las dosis de  $3 \cdot 10^{-9}\text{M}$  y  $3 \cdot 10^{-7}\text{M}$ .

La clonidina produce una disminución de di-



cha liberación a todas las dosis estudiadas, siendo  $P < 0.05$  a la dosis de  $5 \cdot 10^{-12} M$ .

Los demás fármacos estudiados no producen ninguna diferencia significativa en la liberación de  $^3H$ -NA evocada por estímulo eléctrico, con respecto al control.

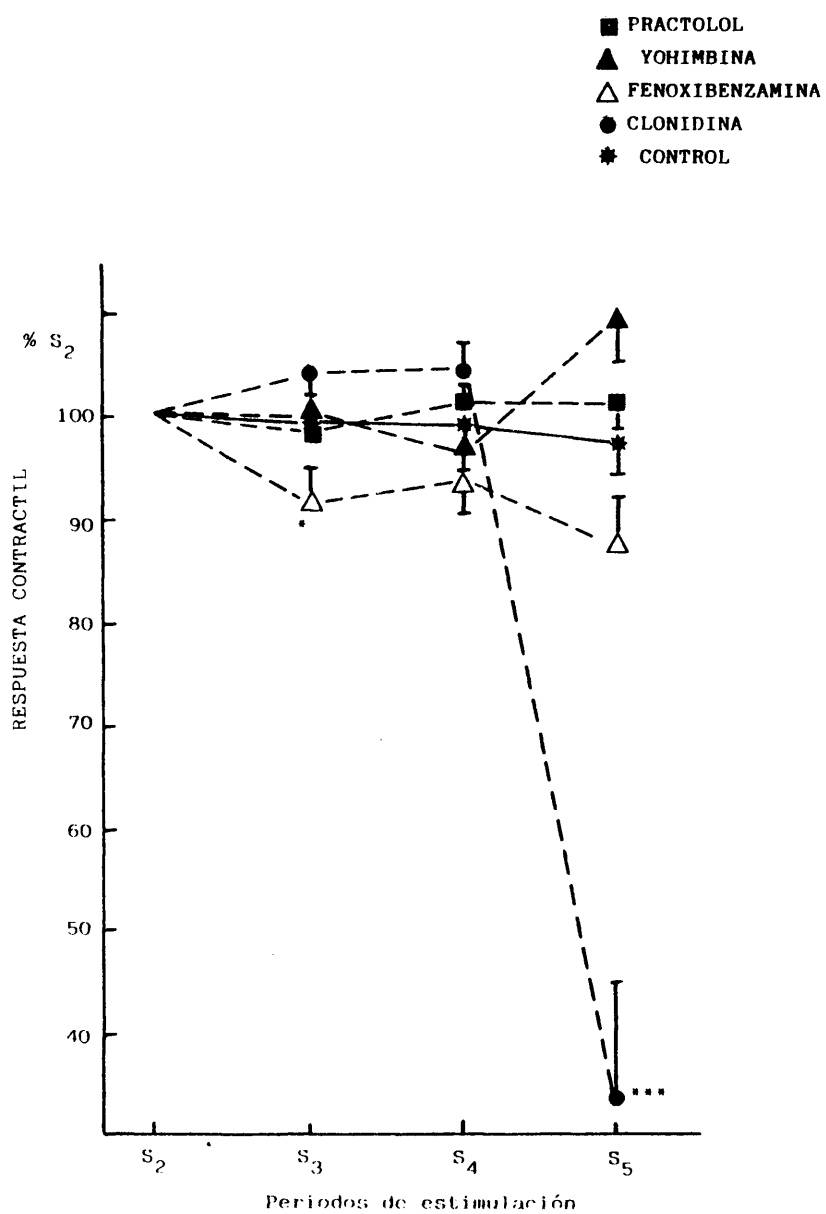


FIGURA 34

Fig. 34.- Representación gráfica de los efectos de los distintos fármacos utilizados, sobre las respuestas contráctiles del conducto deferente de rata inducidas por estimulación eléctrica de campo. La estimulación se realiza con los siguientes parámetros : Fr = 10 Hz, voltaje supra-máximo, duración 1 mseg, a 8 pulsos por tren e intervalos de 15 min., denominándose cada periodo de estimulación: S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>, S<sub>4</sub> y S<sub>5</sub>.

En el eje de ordenadas % de la respuesta del periodo de estimulación S<sub>2</sub>.

En el eje de abscisas los periodos de estimulación.

Las barras verticales representan el E.S.M. \*P<0.05,

\*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001.

Representación gráfica de la respuesta control (———)

y del efecto de los distintos fármacos (----).

(\*) Control.

(■) Practolol.

(▲) Yohimbina.

(△) Fenoxibenzamina.

(●) Clonidina.

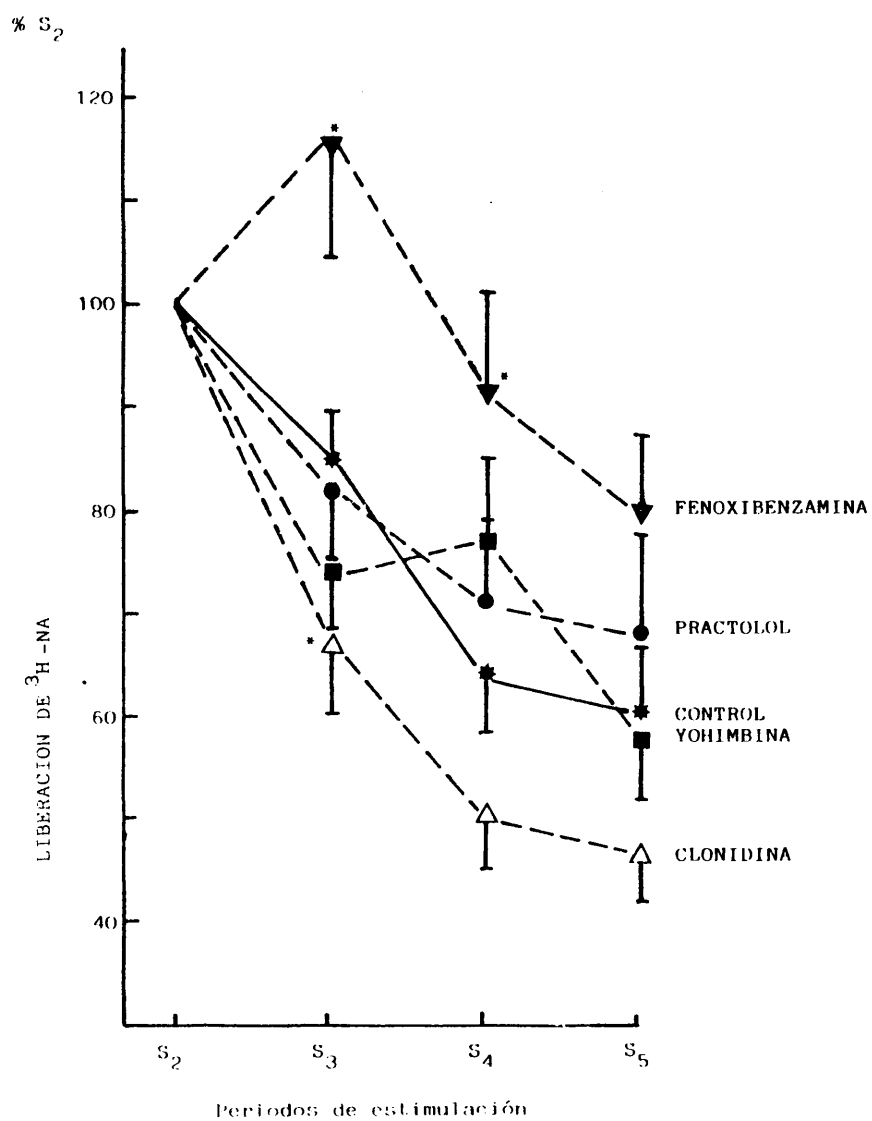


FIGURA 35

Fig. 35.- Representación gráfica de los efectos de los distintos fármacos utilizados sobre el flujo de  $^3\text{H}$ -NA evocado por estímulo eléctrico, del conducto deferente de rata. La estimulación. La estimulación se realiza con los siguientes parámetros: Fr = 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 mseg, a 8 pulsos por tren e intervalos de 15 min., denominándose cada periodo de estimulación:  $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_3$ ,  $S_4$  y  $S_5$ .

En el eje de ordenadas % de la respuesta del periodo de estimulación  $S_2$ .

En el eje de abscisas los periodos de estimulación.

Las barras verticales representan el E.S.M. \* $P < 0.05$ ,

\*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

Representación gráfica de la respuesta control (—)

y del efecto de los distintos fármacos (---).

(\*) Control.

(▼) Fenoxibenzamina.

(●) Practolol.

(■) Yohimbina.

(△) Clonidina.

#### 4.2. Efectos de los distintos farmacos sobre conducto deferente de ratón.

##### 4.2.1. Respuesta mecánica (Fig. 36 )

La yohimbina produce un aumento de la respuesta mecánica de conducto deferente, siendo  $P < 0.01$  a la dosis de  $3,5 \cdot 10^{-7} M$  y  $3,5 \cdot 10^{-5} M$ .

La fenoxibenzamina origina una disminución en dicha respuesta, siendo  $P < 0.01$  a ladosis de  $3 \cdot 10^{-5} M$ .

La clonidina a la dosis de  $5 \cdot 10^{-8} M$  produce con respecto a los valores control, una disminución de la respuesta mecánica ( $P < 0.001$ ).

##### 4.2.2. Liberación de $^3H$ -NA evocada por estímulo eléctrico. (Fig. 37)

La fenoxibenzamina a la menor dosis estudiada  $3 \cdot 10^{-9} M$  produce un aumento significativo  $P < 0.05$  de la liberación de  $^3H$ -NA evocada por estímulo eléctrico.

La clonidina a las dosis de  $5 \cdot 10^{-12} M$  y  $5 \cdot 10^{-8} M$  inhibe la liberación de  $^3H$ -NA evocada por estímulo eléctrico, siendo esta disminución significativa ( $P < 0.05$ ).

La yohimbina no produce ningún efecto significativo a ninguna de las dosis estudiadas.

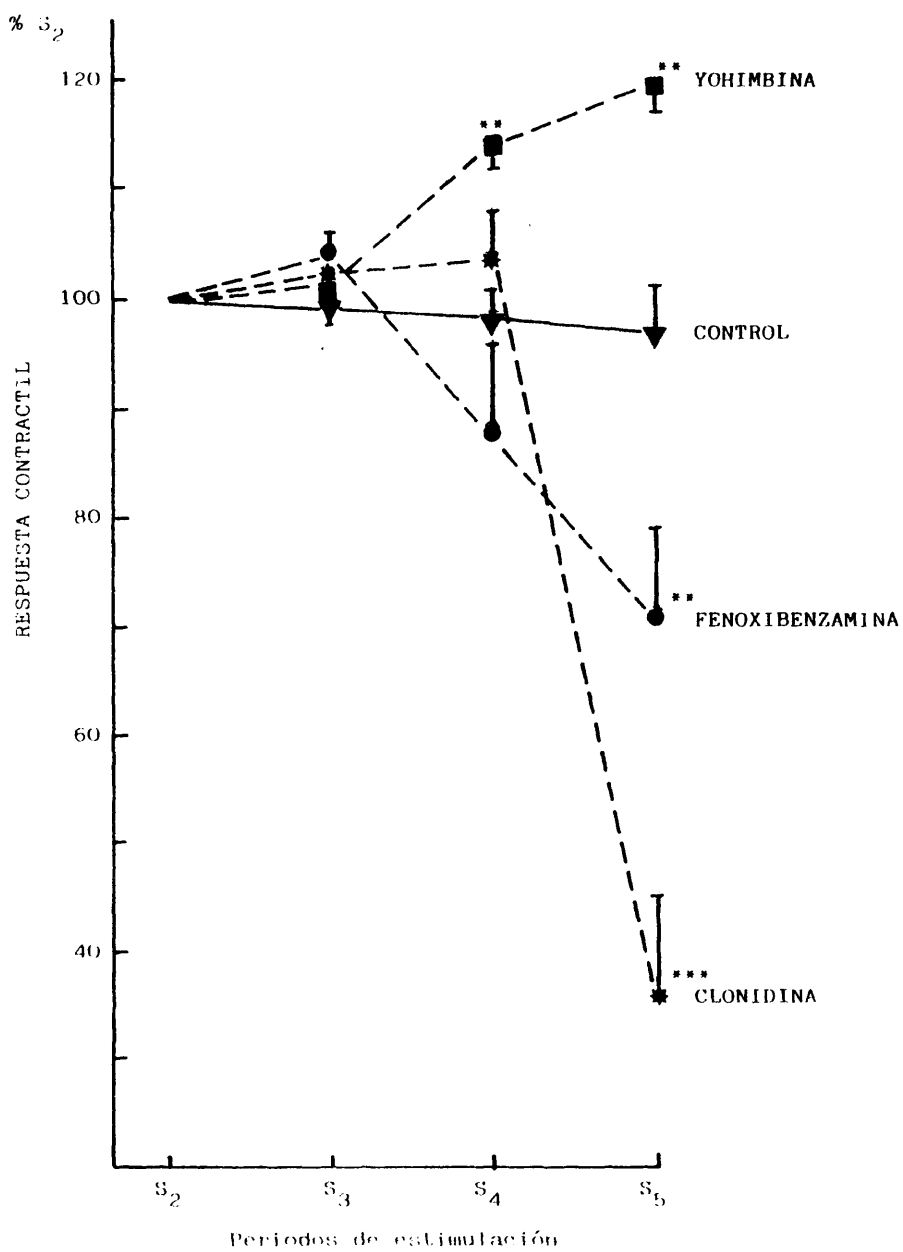


FIGURA 36

Fig. 36.- Representación gráfica de los efectos de los distintos fármacos utilizados, sobre las respuestas contráctiles del conducto deferente de ratón, inducidas por estimulación eléctrica de campo. La estimulación se realiza con los siguientes parámetros: Fr = 15 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 mseg, a 10 pulsos por tren e intervalos de 15 min., denominándose cada periodo de estimulación: S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>, S<sub>4</sub> y S<sub>5</sub>.

En el eje de ordenadas % de la respuesta del periodo de estimulación S<sub>2</sub>.

En el eje de abscisas los periodos de estimulación.

Las barras verticales representan el E.S.M. \*P<0.05,

\*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001.

Representación gráfica de la respuesta control (—)

y del efecto de los distintos fármacos (---).

(▼) Control.

(■) Yohimbina.

(●) Fenoxibenzamina

(✱) Clonidina.



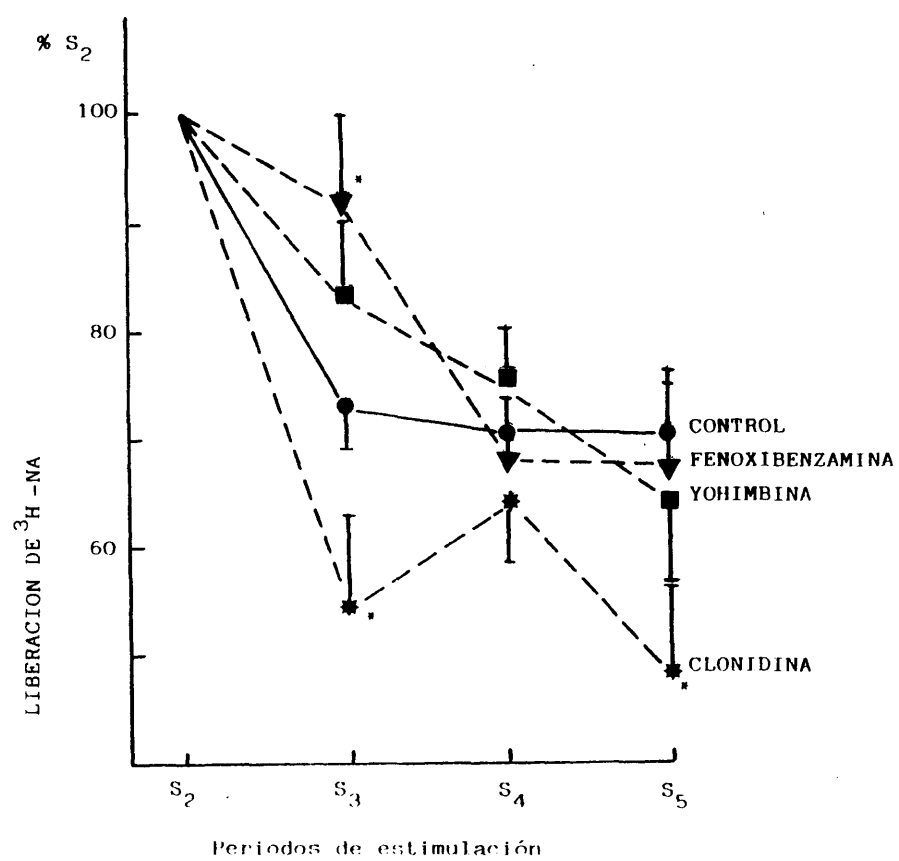


FIGURA 37

Fig. 37.- Representación gráfica de los efectos de los distintos fármacos utilizados sobre el flujo de  $^3\text{H}$ -NA evocado por estímulo eléctrico, del conducto deferente de ratón.

La estimulación se realiza con los siguientes parámetros: Fr = 15 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 mseg. a 10 pulsos por tren e intervalos de 15 min., denominándose cada periodo de estimulación:  $S_1, S_2, S_3, S_4$  y  $S_5$ . En el eje de ordenadas % de la respuesta del periodo de estimulación  $S_2$ .

En el eje de abscisas los periodos de estimulación.

Las barras verticales representan el E.S.M. \* $P < 0.05$ ,

\*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

Representación gráfica de la respuesta control (—) y del efecto de los distintos fármacos (---).

(●) Control.

(▼) Fenoxibenzamina.

(■) Yohimbina.

(✱) Clonidina.

## DISCUSSION

10/1/10

# 1. Justificación de la utilización de las diferentes especies animales.

En el presente trabajo se utilizan tres especies animales diferentes: rata, ratón y cobayo, lo cual obedece básicamente a la diferencia que existe en el mecanismo de la neurotransmisión en el conducto deferente de estas especies.

Ya AMBACHE y ZAR (1971) postularon la hipótesis de que la neurotransmisión en el conducto deferente de cobayo no era adrenérgica, ni colinérgica, ni estaba mediada por los neurotransmisores: serotonina, GABA ó ATP. AMBACHE et al. (1973) y HEDQUIST y Von EULER (1976), estudiando el conducto deferente de rata y cobayo concluían que la neurotransmisión en esta estructura en ambas especies, no era adrenérgica, asignándose a la noradrenalina (NA) liberada endogenamente una función inhibidora. Este fenómeno ha sido observado posteriormente por otros autores (LANGER et al., 1975c, DEW, 1977, LORENZO et al. 1980).

ADEBANJO y AMBACHE (1978) propusieron una clasificación de las diferentes especies en cuanto a la neurotransmisión en el conducto deferente, llegando a concluir que la rata y el cobayo pertenecen al mismo grupo; la neurotransmisión es predominantemente no adrenérgica, siendo el neurotransmisor responsable de la respuesta contráctil, una sustancia aún no identificada, actuando la NA como un inhibidor de la neurotransmisión. Por el contrario, el ratón pertenecería a otro grupo, en el que el neurotransmisor responsable de la respuesta contráctil sería la NA.

Tenemos pues dos grupos experimentales diferenciados en cuanto a la neurotransmisión en el conducto deferente, por una parte el ratón (transmisión adrenérgica) y por otro, rata y cobayo (transmisión no adrenérgica). Pero en este último existen también diferencias, ya que según investigaciones (LARGE, 1975) el conducto deferente de cobayo posee receptores alfa y beta presinápticos, mientras que el conducto deferente de rata no tiene receptores beta presinápticos. Este hallazgo ha sido corroborado por otros autores (LAPORTE et al., 1966, LANDS et al 1967, BENEIT et al., 1980).

Nuestro objetivo, es por tanto, profundizar en el estudio de la neurotransmisión en estos tres modelos experimentales diferentes.

## 2. Justificación de la utilización de los diferentes fármacos.

Para la elección de los fármacos como herramientas experimentales para la detección de los fenómenos farmacológicos, se ha tomado como base su carácter de fármacos adrenérgicos con afinidad por los receptores alfa y beta.

Con afinidad alfa adrenérgica se han utilizado:

- Agonistas adrenérgicos alfa: Clonidina. Dicho fármaco actúa preferentemente sobre receptores alfa<sub>2</sub> presinápticos con efecto estimulante.
- Bloqueantes adrenérgicos alfa: Yohimbina. Tiene un carácter específico de bloqueo de los receptores alfa<sub>2</sub> presinápticos.

- Fenoxibenzamina: Posee caracter no específico, actuando tanto sobre los receptores  $\alpha_1$  postsinápticos como  $\alpha_2$  presinápticos.

Con caracter beta adrenérgico se ha utilizado el practolol, que es un bloqueante beta con mayor afinidad por los receptores  $\beta_1$ .

La razón de utilizar este único fármaco de caracter beta adrenérgico es debido a los estudios previos realizados en nuestro laboratorio (BENEIT et al. 1980) en los que se comprobaron los efectos de distintos beta-bloqueantes: practolol, butoxamina y propranolol, observándose que el practolol era el que originaba los efectos de mayor significación.

### 3. Parametros de estimulación.

Se ha observado la existencia de grandes variaciones en las pautas de estimulación utilizadas por los distintos autores. Por esta razón, hemos intentado obtener unos parámetros estandarizados en nuestro laboratorio.

Los resultados obtenidos demuestran cómo la amplitud de la respuesta contráctil depende de los diferentes parámetros de estimulación.

En el conducto deferente de ratón, a las frecuencias bajas de estimulación la mayor respuesta contráctil se obtiene con un número de pulsos por tren bajo (5 pulsos por tren para 5 Hz, 10 pulsos por tren para 10 Hz, 20 pulsos por tren para 15 Hz.), mientras que cuando la frecuencia es de 40 Hz existe un incremento gradual y continuo a medida que aumentamos el nú-

mero de pulsos por tren, alcanzando el máximo con 50 pulsos por tren. Estos resultados en cuanto a la variabilidad de los parámetros de estimulación son similares a los descritos por AMBACHE y ZAR (1971) en el conducto deferente de cobyao.

A bajas frecuencias de estimulación, por ejemplo 10 Hz en las que el espacio entre 2 pulsos del mismo tren es de 100 mseg, a medida que aumenta el número de pulsos aumenta la liberación del neurotransmisor, concretamente hasta 10 pulsos por tren, a partir de los cuales la contracción se mantiene o disminuye. La disminución se debería a que en cada espacio de 100 mseg entre pulso y pulso se destruye globalmente mas neurotransmisor que el que se libera en cada pulso, siendo el balance final negativo.

Cuando la frecuencia de estimulación es de 40 Hz, el espacio entre dos pulsos del mismo tren es de 25 mseg, no dando tiempo a que la destrucción del neurotransmisor sea superior a su liberación, siendo el balance positivo aun cuando se lleve a trenes de pulso elevados.

Del mismo modo, cuanto mayor es la duración del estímulo, mayor es la liberación del neurotransmisor.

Como consecuencia de estos resultados, las pautas de estimulación que creemos más apropiadas para el estudio de la respuesta contráctil del conducto deferente son:

Ratón y cobyao: voltaje supramáximo, duración 1 mseg, frecuencia 15 Hz, 10 pulsos por tren.

Rata: voltaje supramáximo, duración 1 mseg, frecuencia 10 Hz, 8 pulsos por tren.

#### 4. Estímulo con un solo pulso.

Cuando estimulamos la preparación con un único pulso, la NA que se libera por dicho estímulo, no puede actuar retroactivamente sobre su propia liberación, por lo tanto, el efecto que medimos con un único pulso, no es debido al mecanismo de ret.alim.negativo a nivel presináptico, sobre el que actuaría la NA liberada por dicho estímulo, sino que valoramos únicamente el efecto ejercido por el fármaco que estudiamos, tanto sobre la respuesta contráctil como sobre la liberación de NA provocadas por el estímulo eléctrico, pudiendo así demostrar su participación en un mecanismo de la neurotransmisión a nivel presináptico.

También se utiliza este único pulso para igualar nuestras condiciones de trabajo a las de KALSNER (1979a), el cual, poner en duda la teoría presináptica, siendo este parámetro una de las bases fundamentales para cimentar su hipótesis.

#### 5. Naturaleza del flujo recogido, marcado con $^3\text{H}$ -NA.

Se debe considerar que el sob.flujo de tritio ( $^3\text{H}$ ) de un tejido incubado previamente con  $^3\text{H}$ -NA, representa la diferencia entre el  $^3\text{H}$  liberado y el recogido nuevamente por el tejido (principalmente como noradrenalina a través del proceso de recaptación neuronal).

El sobreflujo de tritio en el fluido del baño de órganos está presente como NA y como sus productos metabólicos (STARKE, 1977), pero la proporción de estos metabolitos original-



mente existentes como NA, en la hendidura sináptica, y que por lo tanto contribuyen a la activación de los receptores es desconocida (HUGHES, 1978), aunque estudios realizados con cromatografía de intercambio iónico y óxido de aluminio (STJARNE, 1973), indican que más del 90% de la radioactividad retenida en la preparación lavada era Noradrenalina (NA) intacta.

Por este motivo, en todos los trabajos de incubación de un tejido con  $^3\text{H}$ -NA, se considera que la radioactividad total medida en el flujo del baño de órganos, representa a la NA intacta, razón por la cual, no se han llevado a cabo hasta ahora ningún esfuerzo para distinguir la proporción exacta de NA intacta y la de sus diferentes metabolitos, existentes en dicho flujo.

Por tanto, se debe considerar que en estos trabajos las alteraciones del sobreflujo del tritio no reflejan en un 100% las variaciones de las concentraciones de NA en la hendidura sináptica.

#### 6. Efectos de la clonidina sobre conducto deferente aislado de rata y ratón.

a) La disminución encontrada en la liberación de  $^3\text{H}$ -NA de conducto deferente de rata, en presencia de clonidina, y con estimulación eléctrica de campo, y que iría acompañada de una inhibición de la liberación del neurotransmisor desconocido, es un hecho que está de acuerdo con la teoría presináptica de la neurotransmisión en conducto deferente (Von EULER y HEDQUIST, 1975; HARPER y HUGHES, 1978), ya que es debida al

mecanismo de autorregulación de la liberación de NA por medio del cual la clonidina que es un estimulante de los receptores alfa<sub>2</sub> presinápticos (STARKE et al. 1975a, LANGER, 1977), provocaría el que la NA liberada al ser estimulados los receptores, regularía su posterior liberación mediante un mecanismo de ret.alim. negativo, por el cual disminuiría la cantidad de <sup>3</sup>H-NA en la hendidura sináptica.

Se observa, del mismo modo, un descenso de la respuesta mecánica, lo cual está de acuerdo con lo encontrado por otros autores (LANGER, 1976, CAVERO et al. 1979).

Una posible explicación del hecho de que tanto la respuesta mecánica como la liberación de <sup>3</sup>H-NA en el conducto deferente de rata, sea inhibida por la adición de clonidina, es que se trata de un mecanismo inespecífico, el cual podría ser debido a una estabilización de la membrana presináptica al ser estimulados los receptores alfa<sub>2</sub> presinápticos por dicho fármaco.

Se podría establecer otra interpretación basándose en la acción dual que posee la clonidina. Dicha acción, dependiente de la dosis, consiste en que la clonidina puede actuar no solo inhibiendo la liberación de NA, mediante la estimulación de los receptores alfa<sub>2</sub> presinápticos, sino que también puede inhibir la liberación de NA mediante un mecanismo de estimulación de los receptores alfa<sub>1</sub> postsinápticos (LORENZO, 1978, MEDGETT et al. 1978)

Esta hipótesis estaría apoyada en el hecho de que a las mayores dosis estudiadas, es cuando se produce una inhibición mas marcada en las respuestas mecánicas, lo cual sería

debido a que la clonidina a dichas dosis actuaría a nivel de receptores  $\alpha_1$  postsinápticos (TITELER et al. 1978), mientras que con las dosis mas pequeñas estudiadas, es cuando se origina una disminución en la liberación de  $^3\text{H-NA}$  mas significativa, debido a la estimulación de los receptores  $\alpha_2$  presinápticos.

- b) En lo que se refiere a las acciones de la clonidina en el conducto deferente aislado de ratón, ha de tenerse en cuenta que posee un mecanismo de neurotransmisión puramente adrenérgico (ADEBANJO y AMBACHE, 1978), por lo cual la disminución obtenida en la liberación de  $^3\text{H-NA}$  y en la respuesta contráctil puede explicarse simplemente por que la clonidina actúa estimulando a los receptores  $\alpha_2$  presinápticos, lo cual provoca que la NA liberada se autorregule por medio de un mecanismo de retroalimentación negativo, encontrándose por consiguiente una disminución de NA liberada y de la respuesta contráctil por existir menos neurotransmisor (NA) en la hendidura sináptica.

#### 7. Efectos de la fenoxibenzamina sobre conducto deferente aislado de rata y ratón.

Los resultados obtenidos en conducto deferente de rata y ratón, adicionando fenoxibenzamina (PBZ) y con estimulación eléctrica de campo, nos sugieren la hipótesis de que este fármaco actúa a nivel presináptico, bloqueando los receptores  $\alpha_2$ , a determinadas dosis (LANGER, 1977, STARKE, 1977), con lo cual

quedaría inhibido el mecanismo de ret.alim.negativo de la liberación de NA, provocándose como consecuencia un aumento de la  $^3\text{H}$ -NA liberada.

Otro posible mecanismo, sería el debido al bloqueo que ejerce la PBZ sobre la incorporación de la  $^3\text{H}$ -NA liberada, a nivel presináptico (CUBEDDU et al., 1974a), con lo cual aumentaría la cantidad de  $^3\text{H}$ -NA en la hendidura sináptica.

El hecho de que en ambas especies con diferentes mecanismos de neurotransmisión (ADENBAJO y AMBACHE, 1978) se encuentre una disminución similar de la respuesta mecánica, puede ser explicado por distintos motivos: en el ratón, la PBZ puede inhibir la respuesta contráctil por un bloqueo de los receptores alfa<sub>1</sub> postsinápticos (DUBOCOVICH y LANGER, 1974, DREW, 1976) mientras que en la rata dicha disminución puede ser provocada por la propia liberación y ausencia de recaptación de NA que media un efecto de tipo inhibitor (LORENZO et al. 1978, KALSNER, 1980).

Cabe por tanto afirmar que los mecanismos de acción mas importantes de la PBZ serian: a) el bloqueo de los receptores alfa<sub>1</sub> postsinápticos, y b) el bloqueo de la incorporación de la NA a la terminación presináptica.

Por otro lado, cabe señalar que KALSNER (1979a) obtiene con PBZ en conducto deferente de cobayo y con un simple pulso, un aumento en la liberación de  $^3\text{H}$ -NA, la cual aumenta al aumentar la frecuencia de estimulación, lo cual llevaría a obtener, según su hipótesis, una alta concentración de transmisor activo (NA) en la hendidura sináptica, el cual podría actuar a nivel de receptores alfa<sub>1</sub> postsináptico, provocando un aumento de la respuesta mecánica parejo al aumento de la frecuencia.

Pero es posible que en estos experimentos la concentración de PBZ pueda haber sido excesiva en comparación con la requerida para las acciones presinápticas específicas, y que entonces se distorsione la estimación de los resultados.

KALSNER (1980) no encontró relación entre la frecuencia de estimulación y la inhibición por NA exógena en el sobreflujo de la  $^3\text{H}$ -NA. Esto podía ser debido a que el rango de frecuencias necesarias para que opere el mecanismo de modulación presináptica, no pueda ser extrapolado de un tejido a otro.

Adicionalmente, CHAN y KALSNER (1979a) y KALSNER y CHAN (1979) observan que la efectividad de la PBZ sobre la liberación de  $^3\text{H}$ -NA era mayor a la frecuencia mas baja, disminuyendo con las frecuencias más altas; en cuanto a la respuesta mecánica, la disminuye con respecto al control a todas las frecuencias estudiadas, lo cual podría ser debido al bloqueo no competitivo de los adrenoceptores alfa a través de la formación de un enlace covalente con la haloalquilaminas (NICKERSON y COLLIER 1975). De acuerdo con la teoría presináptica, la diferencia entre el sobreflujo de  $^3\text{H}$ -NA obtenido en presencia y ausencia de la PBZ debería ser mayor a las frecuencias más altas, lo cual no fue observado por los autores KALSNER y CHAN (1979) y KALSNER (1982).

Como consecuencia de todos los anteriores datos, KALSNER pone en entredicho la existencia de un mecanismo de retroalimentación negativo a nivel presináptico, regulativo de la liberación de NA, pero todo ello puede rebatirse, ya que este autor no emplea ni los parámetros de estimulación, ni las dosis adecuadas para implicar un mecanismo presináptico y además tampoco considera el que, según la teoría presináptica de modulación de la li-

beración de NA, esta amina no es el neurotransmisor propiamente dicho, siendo la NA solamente un transmisor inhibitor de la respuesta postsináptica.

#### 8. Efectos de la yohimbina sobre conducto deferente de rata y ratón.

Los resultados obtenidos al administrar yohimbina en conducto deferente de ratón con estimulación de campo, pueden ser explicados por la acción de este fármaco bloqueando los receptores  $\alpha_2$  presinápticos (STARKE et al. 1975b) aumentando de esta forma la liberación de  $^3\text{H-NA}$ , siendo esta NA la responsable del incremento de la respuesta contráctil.

El hecho de que en la rata, a las mismas dosis utilizadas que en el ratón no se encuentre ningún efecto, puede ser debido a que si bien la yohimbina al bloquear los receptores  $\alpha_2$  presinápticos, produce un incremento de la liberación de  $^3\text{H-NA}$ , posee también carácter inhibitor en los receptores  $\alpha_1$  postsinápticos (STARKE et al. 1975b) por lo que al bloquear estos receptores quedan neutralizados los efectos debidos a la acción sobre ambos receptores, mientras que por otra parte, se mantiene el estímulo de los receptores postsinápticos X, ya que la liberación del neurotransmisor X, y su interacción con el correspondiente receptor X postsináptico no se ve afectada.

9. Efectos del practolol sobre conducto deferente de rata y cobayo.

En lo que se refiere a la rata, no se observa ningun efecto en el conducto deferente, con estimulación de campo, con la adición de practolol, lo cual confirma la no existencia de receptores beta presinápticos (LAPORTE et al., 1966, LANDS et al. 1967, BENEIT et al., 1980) hecho que puede ser utilizado como prueba de que las respuestas obtenidas en conducto deferente de cobayo, con el mismo mecanismo neurotransmisor que la rata (ADENBAJO y AMBACHE, 1978) son debidos a los receptores beta presinápticos y no a efectos inespecíficos.

El practolol en conducto deferente de cobayo con estimulación eléctrica de campo, origina una disminución de la liberación del  $^3\text{H-NA}$ , neurotransmisor inhibidor en esta preparación, lo cual puede ser debido al bloqueo de los receptores beta presinápticos que modulan el mecanismo de ret.alim. positivo para la liberación de NA (ADLER-GRASCHINSKY y LANGER, 1975, LANGER et al., 1975, CELUCH et al. 1975).

## CONCLUSIONES

Atx b15



1. La CLONIDINA disminuye la respuesta contráctil y la liberación de  $^3\text{H}$ -NA en el conducto deferente aislado de rata inducidas por estimulación eléctrica de campo.
2. La FENOXIBENZAMINA, disminuye la respuesta mecánica del conducto deferente aislado de rata, inducida por estimulación eléctrica de campo.
3. La FENOXIBENZAMINA, incrementa la liberación de  $^3\text{H}$ -NA evocada, y aumenta el incremento de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA con respecto al flujo remanente en el periodo previo a la estimulación eléctrica de campo en conducto deferente aislado de rata.
4. La YOHIMBINA, no ejerce ningún efecto significativo sobre la respuesta contráctil ni sobre la liberación de  $^3\text{H}$ -NA evocada en el conducto deferente aislado de rata.
5. El PRACTOLOL, no ejerce ningún efecto significativo sobre el conducto deferente aislado de rata, ni sobre la liberación de  $^3\text{H}$ -NA evocada, ni sobre la respuesta contractil por estimulación eléctrica de campo.
6. La CLONIDINA, disminuye la respuesta mecánica, la liberación de  $^3\text{H}$ -NA evocada y el incremento de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA con respecto al flujo remanente en el periodo previo a la estimulación eléctrica de campo en conducto deferente aislado de ratón.

7. La FENOXIBENZAMINA, disminuye la respuesta mecánica del conducto deferente aislado de ratón inducida por estimulación eléctrica de campo.
8. La FENOXIBENZAMINA incrementa la liberación de  $^3\text{H}$ -NA evocada y aumenta el incremento de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA con respecto al flujo remanente en el periodo previo a la estimulación eléctrica de campo en conducto deferente de ratón.
9. La YOHIMBINA aumenta la respuesta mecánica y la liberación de  $^3\text{H}$ -NA evocada por estimulación eléctrica de campo en conducto deferente aislado de ratón.
10. El PRACTOLOL aumenta la respuesta mecánica del conducto deferente aislado de cobayo inducida por estimulación eléctrica de campo.
11. El PRACTOLOL inhibe la liberación de  $^3\text{H}$ -NA evocada, y aumenta el incremento de la liberación de  $^3\text{H}$ -NA con respecto al flujo remanente en el periodo previo a la estimulación eléctrica de campo en conducto deferente aislado de cobayo.

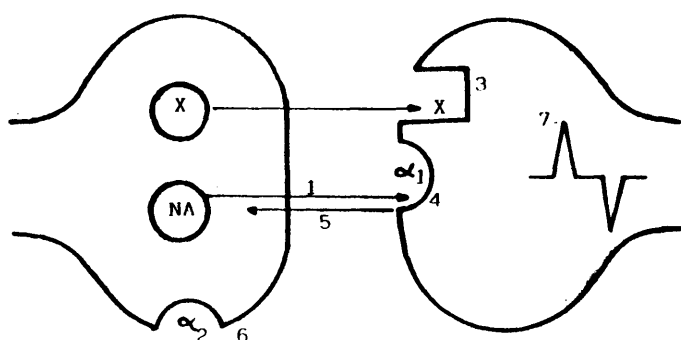


Fig. 38.- Conducto deferente de rata. Resumen de los resultados obtenidos, e hipótesis explicativa sobre los posibles mecanismos de acción.

	CLONIDINA	FBZ	YOHIMBINA	** PRACTOLOL
1	(-)	(+)	(0)	(+)
2	(-)	(0)	(0)	(0)
3	(0)	(0)	(0)	(0)
4	(+)*	(-)*	(0)	(-)
5	(0)	(-)	(0)	(0)
6	(+)	(-)	(0)	(-)
7	(-)	(-)	(0)	(+)

1 = Liberación H<sup>3</sup>-NA

2 = Liberación X

3 = Receptor post X

4 = Receptor post  $\alpha_1$

5 = Incorporación

6 = Receptor pre  $\alpha_2$

7 = Respuesta mecánica

\* Dosis altas

\*\* No existen receptores beta

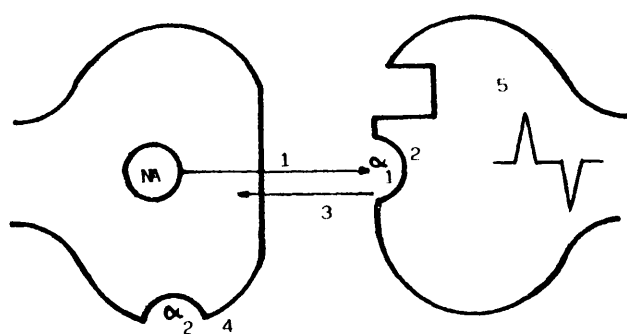


Fig. 39.- Conducto deferente ratón. Resumen de los resultados obtenidos, e hipótesis explicativa sobre los posibles mecanismos de acción.

	CLONIDINA	PBZ	YOHIMBINA
1	(-)	(+)	(+)
2	(0)	(-)	(0)
3 <sub>5</sub>	(0)	(-)	(0)
4 <sub>6</sub>	(+)	(-)	(-)
5 <sub>7</sub>	(-)	(-)	(+)

1 = Liberación  $H^3$ -NA

2 = Receptor post  $\alpha_1$

3 = Incorporación.

4 = Receptor pre  $\alpha_2$

5 = Respuesta mecánica

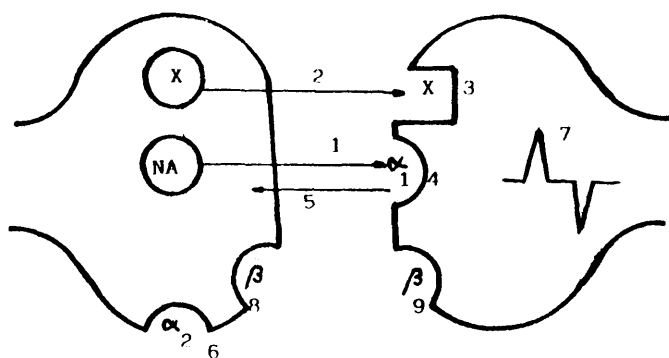


Fig. 40.- Conducto deferente de cobayo. Resumen de los resultados obtenidos, e hipótesis explicativa sobre los posibles mecanismos de acción.

	CLONIDINA <sup>(1)</sup>	PRZ <sup>(2)</sup>	PRACTOLOL
1	(-)	(+)	(-)
2	(-)	(0)	(0)
3	(0)	(0)	(0)
4	(+)*	(-)*	(0)
5	(0)	(-)	(0)
6	(+)	(-)	(0)
7	(+)(-)*	(-)(+)*	(+)
8	(0)	(0)	(-)
9	(0)	(0)	(-)

1 = Liber. H<sup>3</sup>-NA

2 = " X

3 = Receptor X

4 = Receptor post α<sub>1</sub>

5 = Incorporación

6 = Receptor pre α<sub>2</sub>

7 = Respuesta mecánica

8 = Receptor beta pre

9 = Receptor beta post.

\*Dosis altas

(1) LORENZO, 1978 (Paris, 1978)

(2) LORENZO, BENEIT, HIDALGO  
(Sao Paulo, 1978)

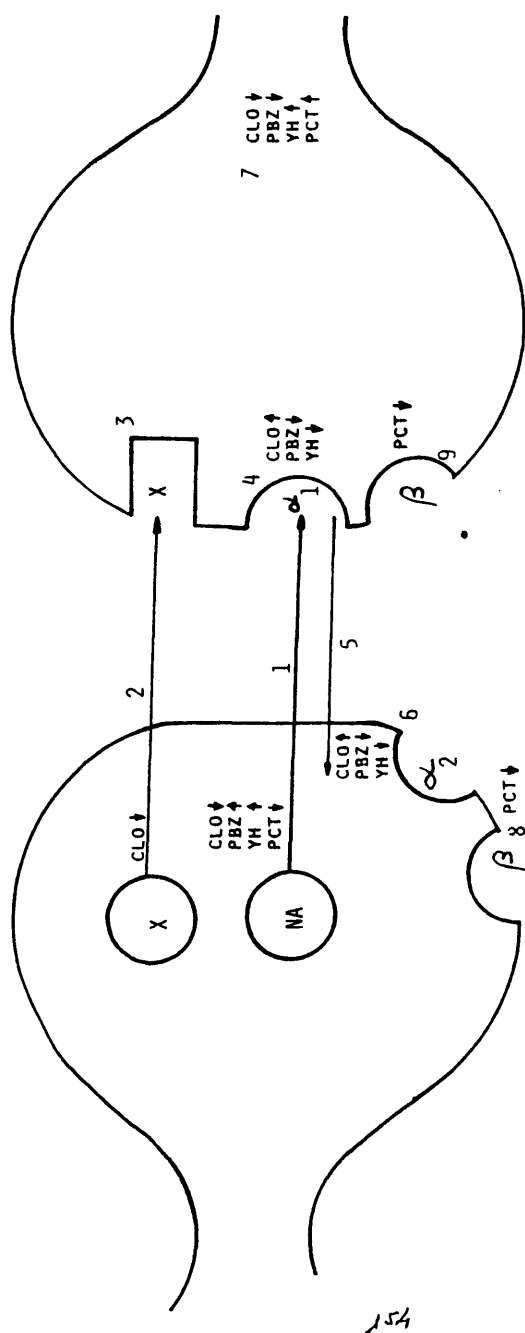


Fig. 4].- Esquema general sobre los posibles mecanismos de acción de los distintos fármacos empleados.

BIBLIOGRAFIA

154 bis

- ADEBANJO, A.O. and AMACHE, N.: Species variation in vas deferens motor transmission. *J.Physiol.* 282, 28-29 (1978).
- ADLER-GRASCHINSKY, E. and LANGER, S.Z.: Possible role of a beta-adrenoceptor in the regulation of noradrenaline release by nerve stimulation through a positive feed-back mechanism. *Br.J.Pharmac.* 53, 43-50 (1975).
- AHLQUIST, R.P.: A study of adrenotropic receptors. *American J. of Physiol.* 153, 586-600 (1948).
- ALLEN, G.S., HENDERSON, I.M., CHAN, S.N. and FRENCH, L.A.: Cerebral arterial spasm. Part I. In vitro contractile activity of vasoactive agents on c and middle cerebral arteries. *J. Neurosurg.* 50, 433-441 (1974).
- AMBACHE, N. and ZAR, N.: Evidence against adrenergic motor transmission in the guinea-pig vas deferens. *J.Physiol. Lond.* 216, 359-389 (1971).
- ARBILLA, S. and LANGER, S.Z.: Differences between presynaptic and postsynaptic alpha-adrenoceptors in the isolated nicotinic membrane of the cat: effects of metanephrine and tolazoline. *B.J.Pharmacol.* 64(2), 259-264 (1978).
- ARMSTRONG, G.M. and BOURA, A.L.A.: Effects of clonidine and guanethidine on peripheral sympathetic nerve function in the pithed rat. *Br.J.Pharmac.* 47, 850-852 (1973).
- BARGER, G. and DALE, H.H.: Chemical structure and sympathomimetic action of drugs. *J.Physiol. (Lond.)* 41, 19-59 (1910).
- BELLEAU, B.: An analysis of drug receptor interaction. In: *Proceedings of the First International Pharmacological Meeting*. Dir. by Uvnas B. Pergamon Press, Oxford, 1963. Estocolmo 1961 pp. 75-95.
- BARKER, K.A., HARPER, B. and HUGHES, I.E.: Possible subdivisions among alpha-adrenoceptors in various isolated tissues. *J.Pharm.Pharmacol.* 29, 129-134 (1977).
- BERLEU, M. and LAFONTON, M.: Identification of alpha<sub>2</sub>-adrenergic receptors in human fat cell membranes by <sup>2</sup>(<sup>3</sup>H) clonidine binding. *Eur.J.Pharmacol.* 67, 481-484 (1980).
- BERTHELSEN, S. and PETTINGER, W.A.: A functional basis for classification of alpha-adrenergic receptors. *Life Sci.* 21, 595-606 (1977).
- BEVAU, J.A.: Norepinephrine and the presynaptic control of adrenergic transmitter release. *Fed.Proc.* 37, 187-190 (1978).
- BIRMINGHAM, A.T.: Sympathetic denervation of the smooth muscle of



- the vas deferens. *J.Physiol. Lond.* 206, 645-661 (1970)
- BLAKELEY, A.G.H., BROWN, G.L. and FERRY, C.B.: Pharmacological experiments on the release of the sympathetic transmitter. *J.Physiol. Lond.* 167, 505-514 (1963).
- BOULLIN, D.J., COSTA, E., and BRODIE, B.B.: Evidence that blockade of adrenergic receptors causes overflow of norepinephrine in cat's colon after nerve stimulation. *J.pharmac. Exp.Ther.* 157, 125-134 (1967).
- BOCOMAN, W.C., RAND, M.J. and WEST, G.B.: *Textbook of Pharmacology.* Blackwell Scientific Publications. Oxford and Edimburgo (1968).
- BOYD, H., CHANG, V. and RAND, M.J.: The anticholinesterase activity of some antiadrenaline agents. *Br.J.Pharmacol.* 15, 525-531 (1960).
- BROOKER, W.D. and CALVERT, D.N.: Blockade of catecholamine mediated release of free fatty acids from adipose tissue in vitro. *Arch.Int.pharmacodyn.* 169, 117-130 (1967).
- BROWN, G.L. and GILLESPIE, J.S.: The output of sympathetic transmitter from the spleen of the cat. *J.Physiol. Lond.* 138, 81-102 (1957).
- BUDGE, : Uber das centrum genitospinale des nerve sympathicus. *Kirchows Arch. g. path.Anat. and Physiol.* 15, 115-126 (1858).
- BURN, J.H. and WEETMAN, D.K.: The effect of eserine on the response of the vas deferens to hypogastric nerve stimulation. *Br.J.Pharmacol.* 20, 74-82 (1963).
- CANNON, W.B. and ROSENBLUETH, A.: Studies on conditions of activity in endocrine organs. *Amer.J.Physiol.* 104, 557-574 (1933).
- CANNON, W.B. and URIDIL, I.E.: Studies of the conditions of activity in endocrine glands. VIII. Some effects on the denervated heart of stimulating the nerves of the lines. *Am.J.physiol.* 58, 353-354 (1921).
- CÁVERO, I., DEUNIS, T., LEFEVRE-BORG, F., PERROT, P., ROACH, A.G. and SCATTON, B.: Effect of clonidine, prazosin and phentolamine on heart rate and coronary sinus catecholamine output during cardioaccelerator nerve stimulation in spinal dogs. *Br.J.Pharmacol.* 67, 283-292 (1979)
- CELUCH, S.M., DUBOCOVICH, M.L. and LANGER, S.Z.: Stimulation of pre-synaptic beta-adrenoceptors enhances ( $^3\text{H}$ ) noradrenaline release during nerve stimulation in the perfused cat

- spleen. *Br.J.Pharmacol.* 63, 97-109 (1978).
- CHI-CHUNG CHAN, and KALSNER, S.: An examination of the negative feed-back function of presynaptic adrenoceptors in a vascular tissue. *Br.J.pharmacol.* 67, 401-407 (1979).
- CUBEDDU, L.X., BARNES, F.M., LANGER, S.Z. and WEINER, N.: Release of norepinephrine and dopamine-beta-hydroxylase by nerve stimulation. I. Role of neuronal and extraneuronal uptake of alpha presynaptic receptors. *J.pharmacol. Exp.Ther.* 190, 431-450 (1974a).
- CUBEDDU, L.X., BARNES, E. and WEINER, N.: Release of norepinephrine and dopamine beta-hydroxylase by nerve stimulation.IV. An evaluation of a role for cyclic adenosine monophosphate. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 193, 105-127 (1975).
- CUBEDDU, L.X., LANGER, S.Z. and WEINER, N.: The relationships between alpha receptor block, inhibition of norepinephrine uptake and the release and metabolism of <sup>3</sup>H-norepinephrine. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 188, 368-385 (1974b).
- CUBEDDU, L.X. and WEINER, N.: nerve-stimulation mediated overflow of norepinephrine and dopamine beta hydroxylase. III. Effects of norepinephrine depletion on the alpha presynaptic regulation of release. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 192, 1-14 (1975).
- DAHLOF, C., ABLAD, B., BORG, K.O., EK, L. and WALDECK, B.: Prejunctional inhibition of adrenergic nervous vasomotor control due to beta-receptor blockade. *Proceedings. Symposium on Chemical tools in Catecholamine Research.* II, 201-210. ed. Almgren, O., Carlsson, A. and Eugel, J. Amsterdam, North-holland Publishing Comp. (1975).
- DAHLOF, C., LJUNG, B. and ABLAD, B.: Increased noradrenaline release in the rat portal vein during sympathetic nerve stimulation due to activity of presynaptic beta-adrenoceptors by noradrenaline and adrenaline. *Eur.J.pharmacol.* 50, 75-78 (1978).
- DAHLOF, C., LJUNG, B. and ABLAD, B.: pre- and postfunctional beta-adrenoceptor mediated effects on transmitter release and effector response in the isolated rat portal vein. *Acta Physiol.Scand.* 108, 39-47 (1980).
- DALE, H.H.: On some physiological actions of ergot. *J.Physiol.Lond.* 34, 163-203 (1906).

- De POTTER, W.P., CHUBB, I.W., PUT, A. and De Schaepdryver, A.F.: Facilitation of the release of noradrenaline and dopamine beta-hydroxylase at low stimulation frequencies by alpha-blocking agents. *Arch.Int.Pharmacodyn.Ther.* 193, 191-197 (1971).
- DOUGLAS, W.W.: Stimulus secretion coupling: the concept and dues from chromaffin and other cells. The First Gaddum Memorial Lectures. *Br.J.pharmacol.* 34, 451-474 (1968)
- DOXEY, J.C. and EVERITT, J.: Inhibitory effects of clonidine on responses to sympathetic nerve stimulation in the pithed rat. *Br.J.Pharmacol.* 61, 559-566 (1977).
- DREW, G.M.: Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists on pre and postsynaptically located alpha-adrenoceptors. *Eur.J.Pharmac.* 36, 313-320 (1976).
- DREW, G.M.: Pharmacological characterization of the presynaptic alpha-adrenoceptor in the rat vas deferens. *Eur.J.pharmacol.* 42, 123-130 (1977).
- DUBOCOVICH, M. and LANGER, S.Z.: Effects of flow-stop on the metabolism of  $^3\text{H}$ -noradrenaline released by nerve stimulation in the perfused cat's spleen. *Naunyn Schmiedeberg's Arch.Pharmac.* 278, 179-194 (1973).
- DUBOCOVICH, M.L. and LANGER, S.Z.: Negative feed-back regulation of noradrenaline release by nerve stimulation in the perfused cat's spleen: differences in potency of phenoxybenzamine in blocking the pre- and postsynaptic adrenergic receptors. *J.Physiol. (Lond.)* 237, 505 (1974).
- DUBOCOVICH, M.L. and LANGER, S.Z.: Evidence against a physiological role of prostaglandins in the regulation of noradrenaline release in the cat spleen. *J.Physiol.Lond.*, 251, 737-762 (1975).
- DUBOCOVICH, M.L. and LANGER, S.Z.: Influence of the frequency of nerve stimulation on the metabolism of  $^3\text{H}$ -norepinephrine released from the perfused cat spleen: differences observed during and after the period of stimulation. *J. Pharmac.Exp.Ther.* 198, 83-101, (1976).
- DUBOCOVICH, M.L., LANGER, S.Z. and PELAYO, F.: Effect of cyclic nucleotides on ( $^3\text{H}$ )-neurotransmitter release induced by potassium stimulation in the rat pineal gland. *Br. J.Pharmacol.* 62, 383 (1978).
- EISENFELD, A.J., AXELROD, J. and KRAKOFF, L.: Inhibition of the extraneuronal accumulation and metabolism of norepinephrine by adrenergic blocking agents. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 156, 107-113 (1967).

- ENERO, M.A. and LANGER, S.Z.: Influence of reserpine induced depletion of noradrenaline on the negative feed-back mechanism for transmitter release during nerve stimulation. *Br.J.Pharmacol.* 49, 214-225 (1973).
- ENERO, M.A. and LANGER, S.Z.: Inhibition by dopamine of  $^3\text{H}$ -noradrenaline release elicited by nerve stimulation in the isolated cat's nictitating membrane. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmac.* 289, 179-203 (1975).
- ENERO, M.A., LANGER, S.Z., ROTHLIN, R.P. and STEFANO, F.J.E.: Role of the alpha-adrenoceptor in regulating noradrenaline overflow by nerve stimulation. *Br.J.Pharmacol.* 44, 672 (1972).
- von EULER, U.S.: A specific sympathomimetic ergone in adrenergic nerve fibres (sympathin) and its relations to adrenaline and noradrenaline. *Acta Physiol.Scand.* 12, 73-97 (1946).
- von EULER, U.S. and HEDQUIST, P.: Evidence for an alpha and beta<sub>2</sub>-receptor mediated inhibition of the twitch response<sup>2</sup> in the guinea-pig vas deferens by noradrenaline. *Acta Physiol.Scand.* 93, 572-573 (1975).
- FARAH, M.B. and LANGER, S.Z.: Protection by phentolamine against the effects of phenoxybenzamine on transmitter release elicited by nerve stimulation in the perfused cat heart. *Br.J.Pharmac.* 52, 549-557 (1974).
- FERRY, C.B.: The innervation of the vas deferens of the guinea-pig. *J.Physiol.* 192, 463-478 (1967).
- FRANCO-MORSELLI, R., ELGHOZI, J.L., JOLY, E., DI GIULIO, S. and MEYER, P.: Increased plasma adrenaline concentrations in essential hypertension. *Br.Med.* 2, 1251 (1977).
- FRIEND, D.S. and FARGUHAR, M.G.: Functions of coated vesicles during protein absorption in the vas deferens. *J.Cell.Biol.* 35, 357-376 (1967).
- FURCHGOTT, R.F.: Dibenzamine blockade in strips of rabbit aorta and its use in differentiating receptors. *J.Pharmacol.Exp. Ther.* 111, 265-284 (1954).
- GEORGE, J.J., KIER, L.B. and MAYLAND, J.R.: *Molecular Pharmacology*, 17, 328-336 (1971).
- GOLDSTEIN, A., ARONOW, L. and KELMON, S.M.: Principles of drug action: The Basis of Pharmacology. 2nd Ed. John Wiley and Sons, Inc. New York (1974).

- GRAHAM, J.D.F., ALKATIB, H. and SPRIGGS, T.L.B.: The isolated hypergastric nerves-vas deferens preparations of the rat. *Br.J.Pharmac.* 32, 34-35 (1968).
- GUIMARAES, S.: The slopes of cumulative and non-cumulative dose-response curves for noradrenaline and isoprenaline. *Eur.J.Pharmac.* 17, 44-49 (1972).
- HAMILTON, D.W., JONES, A.L. and FAWCETT, D.W.: Cholesterol biosynthesis in the mouse epididymis and ductus deferens: a biochemical and morphological study. *Biol.Reprod.* 1, 167-184 (1969).
- HARPER, B. and HUGHES, I.E.: The effect of stimulus intensity on alpha-adrenoceptor-mediated feedback control of noradrenaline release. *Br.J.Pharmacol.* 63, 689-691 (1975).
- HEDGES, A. and TURNER, P.: Beta-receptors in human isolated smooth muscle. *Br.J.Pharmacol.* 37, 547-548 (1969).
- HEDQVIST, P.: Antagonism by calcium of the inhibitory action of prostaglandin  $E_2$  on sympathetic neurotransmission in the cat spleen. *Acta Physiol.Scand.* 80, 269-275 (1970).
- HEDQVIST, P.: Further evidence that prostaglandins inhibit the release of noradrenaline from adrenergic nerve terminals by restriction of availability of calcium. *Br.J.Pharmacol.* 58, 599-603 (1976).
- HEDQVIST, P. and Von EULER, U.S.: Inhibition by alpha and beta-adrenoceptors of the twitch response to transmural stimulation in the guinea pig vas deferens. *Eur.J.Pharmacol.* 40, 153-162 (1976).
- HEDQVIST, P. and FREDHOLM, B.B.: Effects of adenosine on adrenergic neurotransmission: prejunctional inhibition and postjunctional enhancement. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmac.* 293, 217-223 (1976).
- HEDQVIST, P. and MOAWAD, A.: Presynaptic alpha and beta-adrenoceptor mediated control of noradrenaline release in human oviduct. *Acta Physiol.Scand.* 95, 494 (1975).
- HENDERSON, G., HUGHES, J. and KOSTERLITZ, H.W.: A new example of a morphine sensitive neurosensitive neuro-effector junction: adrenergic transmission in the mouse vas deferens. *Br.J.Pharmacol.* 46, 764-766 (1972).
- HERTTING, G.: Effects of drugs and sympathetic denervation on noradrenaline uptake and binding in animal tissues. In: *Pharmacology of Cholinergic and Adrenergic Transmission*, ed. Douglas, W.W. and Carlsson, A. 277-288, Oxford: Pergamon Press (1965).

- HIRATA, F., STRITTWATTER, W.J. and AXELROD, J.: Beta-adrenergic receptor agonists increase phospholipid methylation, membrane fluidity, and beta-adrenergic receptor-adenylate. *Cell.Biology* 76, n° 1, 368-372 (1979).
- HOLMAN, M.E. and JOWETT, A.:  
  
*Austral.J.Exp.Biol.* 42, 40-53 (1964).
- HOTTA, Y.: Some properties of the functional and intrafunctional receptors in the vas deferens of the guinea-pig. *Agents and Actions*. 1, 13-21 (1969).
- HUGHES, I.E.: The effect of amitriptyline on presynaptic mechanisms in noradrenergic nerves. *Br.J.Pharmacol.* 63, 315-321 (1978).
- HUGHES, I.E., KOSTERLITZ, H.W. and FRANCIS, L.M.: Effect of morphine on adrenergic transmission in the mouse vas deferens. Assessment of agonist and antagonist potencies of narcotic analgesics. *Br.J.Pharmacol.* 53, 371-381 (1975).
- HUGHES, I.E. and ROTH, R.H.: Evidence that angiotensin enhances transmitter release during sympathetic nerve stimulation. *Br.J.Pharmac.* 41, 239-255 (1971).
- HUGHES, I.E. and VANE, J.R.: An analysis of the responses of the isolated portal vein of the rabbit to electrical stimulation and to drugs. *Br.J.Pharmac.Chemother.* 30, 46-66 (1967).
- HUKOVIC, S.: Responses of isolated sympathetic nerve-ductus deferens preparation of the guinea-pig. *Br.J.Pharmacol.* 16, 188-194 (1961).
- IGNARRO, L.T. and TITUS, E.: The presence of antagonistically acting alpha and beta adrenergic receptors in the mouse spleen. *J.Pharmac.Exp.Ther.* 160, 72-80 (1968).
- IVERSEN, L.L.: The inhibition of noradrenaline uptake by drugs. *Adv Drug Res.* 2, 5-23 (1965).
- IVERSEN, L.L.: The uptake and storage of noradrenaline in sympathetic nerves. Cambridge: University Press. (1967).
- IVERSEN, L.L.: Dopamine receptors in the brain. *Science* 188, 1084-1089 (1975).
- IVERSEN, L.L. and LANGER, S.Z.: Effect of phenoxybenzamine on the uptake and metabolism of noradrenaline in the rat heart and vas deferens. *Br.J.Pharmacol.* 37, 627-637 (1969).

- JARROT, B., LOUIS, W.J. and SUMMERS, R.J.: The effect of a series of clonidine analogs on  $^3\text{H}$ -clonidine binding in rat cerebral cortex. *Biochem.Pharmacol.* 28, 141-144 (1979b).
- JENKINS, D.A., MARSHALL, I. and NESMYTH, P.A.: Is morphine inhibition of the twitch response of the mouse vas deferens mediated via noradrenaline? *Br.J.Pharmacol.* 55, 267-268 (1975).
- JOHANSSON, S.R.M., ANDERSON, R.G.G. and WIKBERG, J.E.S.: Comparison of beta<sub>1</sub> and beta<sub>2</sub>-receptor stimulation in Oestrogen or Progesterone dominated rat uterus. *Acta Pharmacol. et Toxicol.* 47, 252-258 (1980).
- JOHANSSON, B., JOHANSSON, S.R., LJUNG, B. and STAGE, L.: A receptor kinetic model of a vascular neuroeffector. *J. Pharmac.Exp.Ther.* 180, 636-646 (1972).
- JOHSON, D.G., THOA, N.B., WEINSHILBOUM, R., AXELROD, J. and KOPIN, I.J.: Enhanced release of dopamine beta-hydroxylase from sympathetic nerves by calcium and phenoxybenzamine and its reversal by prostaglandins. *Proc.Nat. Acad.Sci. USA* 68, 2227-2230 (1971).
- KALSNER, S.: Mechanisms of inactivation of noradrenaline in the iris sphincter, tracheas muscle and facial artery of cattle: implications for beta-adrenoceptor mediated responses. *Br.J.Pharmacol.* 64, 545-552 (1978).
- KALSNER, S.: Single pulse stimulation of guinea-pig vas deferens and the presynaptic receptor hypothesis. *Br.J.Pharmacol.* 66, 343-349 (1979a).
- KALSNER, S.: Adrenergic presynaptic receptors examination of a hypothesis in guinea-pig vas deferens. *Can.J.Physiol. Pharmacol.* 57, 717-724 (1979b).
- KALSNER, S.: Limitations of presynaptic adrenoceptor theory: The characteristics of the effects of noradrenaline and phenoxybenzamine on stimulation induced efflux of ( $^3\text{H}$ ) noradrenaline in vas deferens. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 212, 232-239 (1980a).
- KALSNER, S.: The effects of (+) and (-)-Propranolol on  $^3\text{H}$ -transmitter efflux in guinea-pig atria and the presynaptic beta-adrenoceptor hypothesis. *Br.J.Pharmacol.* 70, 491-498 (1980b).
- KALSNER, S. and CHI-CHUNG CHAN: Adrenergic antagonists and the presynaptic receptor hypothesis in vascular tissue. *J. Pharmacol.Exp.Ther.* 211, n°2, 257-264 (1979).
- KALSNER, S.: The presynaptic receptor controversy. *Trends in Phar-*

macological Sciences. 3, 11-21 (1982).

- KALSNER, S., FREW, R.D. and SMITH, G.M.: Mechanism of methylxanthine sensitization of norepinephrine responses in a coronary artery. *Am.J.Physiol.* 228, 1702-1707 (1975).
- KALSNER, S., NICKERSON, M. and BOYD, G.N.: Selective blockade of potassium-induced contractions of aortic strips by beta-diethylaminoethyl-diphenylpropylacetate (SKF525A) *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 174, 500-508 (1970).
- KAUMANN, A.J., BIRNBAUMER, L. and WITTMAN, R.: Heart beta-adrenoceptors. *Receptors and Hormone Action*. 3, 133-177 (1978).
- KIRPEKAR, S.M., FURCHGOTT, R.F., WAKADE, A.R. and PRAT, J.C.: Inhibition by sympathomimetic amines of the release of norepinephrine evoked by nerve stimulation in the cat spleen. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 187, 529-538 (1973).
- LANDS, A.M., ARNOLD, A., McANLIPF, J.P., LUDENA, F.P. and BROWN, T.G.: Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetics amines. *Nature (Lond.)* 214, 579-598 (1967).
- LANGER, S.Z.: The metabolism of (<sup>3</sup>H)-noradrenaline released by electrical stimulation from the isolated nictitating membrane of the cat and from the vas deferens of the rat. *J.Physiol.* 208, 515-546 (1970).
- LANGER, S.Z.: The regulation of transmitter release elicited by nerve stimulation through a presynaptic feed-back mechanism. In *Frontiers in Catecholamine Research*, ed. Usdin, E. and Snyder, S. 543-549. New York: Pergamon Press (1973).
- LANGER, S.Z.: Presynaptic regulation of catecholamine release. *Biochemical Pharmacology* 23, 1793-1800 (1974b).
- LANGER, S.Z.: The role of alpha and beta-presynaptic receptors in the regulation of noradrenaline release elicited by nerve stimulation. *Clin.Sci.Mol.Med.* 51, 423S-426S (1976).
- LANGER, S.Z.: Presynaptic receptors and their role in the regulation of transmitter release. Sixth Gaddum Memorial Lecture. *Br.J.Pharmacol.* 60, 481-497 (1977).
- LANGER, S.Z.: Presynaptic regulation of the release of catecholamines. *Pharmacological Reviews* 32, n°4, 337-362 (1981)
- LANGER, S.Z., ADLER, E., ENERO, M.A. and STEFANO, F.J.E.: The role of the alpha-receptor in regulating noradrenaline overflow by nerve stimulation. XXVth International Congress of Physiological Sciences, pp. 335, Munich (1971).



- LANGER, S.Z., ADLER-GRASCHINSKY, E. and ENERO, M.A.: Positive feed-back mechanism for the regulation of noradrenaline released by nerve stimulation. Abstract of Jerusalem Satellite Symposia. XXVI International Cong. Physiological Sciences. p. 81 (1974).
- LANGER, S.Z., ADLER-GRASCHINSKY, E. and GIORGI, O.: Physiological significance of the alpha adrenoceptor mediated negative feed-back mechanism that regulates noradrenaline release during nerve stimulation. *Nature*, 265, 648-650 (1977).
- LANGER, S.Z. and DUBOCOVICH, M.L.: Subsensitivity of presynaptic alpha-adrenoceptors after exposure to noradrenaline. *Eur.J.Pharmacol.* 41, 87-88 (1977).
- LANGER, S.Z., DUBOCOVICH, M.L. and CELUCH, S.M.: Prejunctional regulatory mechanism for noradrenaline release elicited by nerve stimulation. In: *Chemical tools in Catecholamine Research*. II. ed. Almgren, C., Carlsson, A. and Engel, J. pg. 183-191, Amsterdam: Elsevier, North-Holland/U.S.A. (1975a).
- LANGER, S.Z. and ENERO, M.A.: The potentiation of responses to adrenergic nerve stimulation in the presence of cocaine: its relationship to the metabolic fate of released norepinephrine. *J.Pharmac.Exp.Ther.* 191, 431-443 (1974).
- LANGER, S.Z., ENERO, M.A., ADLER-GRASCHINSKY, E. and STEFANO, F.J. E.: The role of the alpha-receptor in the regulation of transmitter overflow elicited by stimulation. *Vth Int.Cong.Pharmacology* pg. 134, San Francisco (1972b).
- LANGER, S.Z., ENERO, M.A., ADLER-GRASCHINSKY, E., DUBOCOVICH, M.L. and CELUCH, S.M.: Presynaptic regulatory mechanisms for noradrenaline release by nerve stimulation. In: *Proceedings of the Symposium on Central Action of Drugs in the Regulation of Blood Pressure*. ed. Davies D.S. and Reid, J.L. pg. 133-151. London: Pitman Medical (1975b).
- LANGER, S.Z. and MASSINGHAM, R.: Alpha-adrenoceptors and the clinical pharmacology of clonidine. In: *Clinical Pharmacology and Therapeutics. Proceedings of First World Conference*. ed. P. Turner, pg. 158-164. Macmillan Publishers, London (1980).
- LANGER, S.Z., PELAYO, F. and DUBOCOVICH, M.L.: Presynaptic receptors and mechanism of action of some antihypertensive drugs. *Proceedings of the B.P.S.* 4th-6th January pp. 327-337 (1978).
- LANGER, S.Z. and TRENDLENBURG, H.: The effect of a saturable uptake

mechanism on the slopes of dose-response curves for sympathomimetic amines and on the shifts of dose response-curves produced by a competitive antagonist. *J.Pharmac.Exp.Ther.* 167, 117-142 (1969).

- LANGLEY, J.M.: On the reaction of cells and nerve endings to certain poisons, chiefly as regards the reaction of striated muscle to nicotine and curare. *J.Physiol.* 33, 374-413 (1905).
- LANGLEY, J.N. and ANDERSON, H.: The innervation of the pelvic and adjoining viscera. Part V. Anatomical Observation. *J. Physiol.* 20, 372-406 (1896).
- LAPROTE, J., JANE, F. and VALDECASAS, F.G.: Some aspects of the rat and guinea-pig isolated vas deferens preparation. *Med.Pharmacol.Exp.* 15, 483-490 (1966).
- LARGE, B.J.: Sympathetic beta-receptors and the guinea-pig vas deferens. *Br.J.Pharmacol.* 24, 194-204 (1965).
- LEARMOUTH, J.K.: A contribution to the neurophysiology of the urinary bladder in man. *Brain* 59, 147-176 (1931).
- LEVY, B. and WILKENGELD, B.L.: The potentiation of rat uterine inhibitory responses to noradrenaline by theophylline and nitroglycerine. *Br.J.Pharmacol.* 34, 604-612 (1968).
- LINDMAN, R., LOFFELHILZ, K. and MUSCHOLL, E.: A muscarinic mechanism inhibiting the release of noradrenaline from peripheral adrenergic nerves fibres by nicotinic drugs. *Br. J.Pharmacol.* 32, 280-294 (1968).
- LOEB, L.: Beitrage zur Bebegung der Samenleiter. Dissertation, Gie-ssen (1866).
- LOEWI, O.: Uber humorale Ubertragbarkeit der Herznervenoirkung. *Pflugers Arch.ges.Physiol.* 189, 239 (1921).
- LOFFELHOLZ, K.: Nicotinic drugs and postganglionic sympathetic trans- mission. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmak.* 267, 64-73 (1970).
- LOKHANDWALA, M.F. and BUCKLEY, J.P.: Effect of presynaptic alpha- adrenoceptor blockade on responses to cardiac nerve stimulation in anaesthetised dogs. *Eur.J.Pharmacol.* 40, 183-186 (1976).
- LORENZO, P.: Dual action of clonidine on the response of guinea-pig vas deferens to field stimulation. VII Cong.Int.Pharm- mac. Paris (1978).
- LORENZO, P., HIDALGO, A. and BENEIT, J.V.: Estudio farmacológico de las respuestas del conducto deferente de rata y coba-

yo inducidas por estimulación eléctrica de campo. VII Cong.Latinoamericano de Farmac. Sao Paulo (1978).

- MAGUIERE, H.M., ROSS, E.M. and GILMAN, A.G.: Beta-adrenergic receptor: ligand binding properties and the interaction with adenylyl cyclase. *Adv. Cyclic Nucleotide Res.* 8, 2-83 (1977).
- McCULLOCH, H.W., RAND, M.J. and STORY, D.F.: Inhibition of <sup>3</sup>H-noradrenaline release from sympathetic nerves of guinea-pig atria by a presynaptic alpha-adrenoceptor mechanism. *Br.J.Pharmacol.* 46, 523-524 (1972).
- McCULLOCH, M.W., RAND, M.J. and STORY, D.F.: Evidence for a dopaminergic mechanism for modulation of adrenergic transmission in the rabbit artery. *Br.J.Pharmacol.* 42, 41P (1973).
- McDEVITT, D.G.: Adrenoceptor blocking drugs. Clinical pharmacology and therapeutic use. *Drugs* 17, 267-288 (1979).
- MEDGETT, I.C., McCULLOCH, M.W. and RAND, M.J.: Partial agonist action of clonidine on prejunctional and postjunctional alpha-adrenoceptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.* 304, 215-221 (1978).
- MITCHELL, G.A.G.: Anatomy of the autonomic nervous system. Livingstone, Edinburgh (1953).
- NICKERSON, M. and COLLIER, R.: Drugs inhibiting adrenergic nerves and structures innervated by them. In: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, ed. Goodman L.S. and Gilman A. pp. 533-564. New York: MacMillan Publishing Co. (1975).
- PATON, W.D.M. and VIZI, E.S.: The inhibitory action of noradrenaline and adrenaline on acetylcholine output by guinea-pig ileum longitudinal muscle strip. *Br.J.Pharmac.* 35,10,(1969)
- PELAYO, F., DUBOCOVICH, M.L. and LANGER, S.Z.: Possible role of cyclic nucleotide in regulation of noradrenaline release from rat pineal through presynaptic adrenoceptors. *Nature* 274, 76 (1978).
- PERSSON, H. and JOHNSON, R.: Adrenergic receptors in the guinea-pig trachea and lung. *Acta Pharmac.Tox.* 28, 49-56 (1979).
- PFEUFFER, T.: GTP-binding proteins in membranes and the control of adenylyl cyclase activity. *J.Biol.Chem.* 252, 7224-7234 (1977).
- POWELL, C.E. and SLATER, J.M.: Blocking of inhibitory adrenergic receptor by a dichloro analogue of Isoproterenol. *J.Pharm.Exp.Ther.* 122, 480-488 (1958).

- RAND, M.J., McCULLOCH, M.W. and STORY, F.: Prefunctional modulation of noradrenergic transmission by noradrenaline, dopamine and acetylcholine. In: *Central Action of Drugs in Blood Pressure Regulation*, ed. Davies, D.S. and J. L. Reid, pp. 94. Baltimore-London-Tokyo: University Park Press (1975).
- RAND, M.J., McCULLOCH, M.W. and STORY, F.: Feedback modulation of noradrenergic transmission. *Trends in Pharmacological Sciences*, 3, 8-11 (1982).
- RAND, M.J., STORY, D.F., ALLEN, G.S., GLOVER, A.B. and McCULLOCH, H.W.: Pulse-to-pulse modulation of noradrenaline release through a prejunctional alpha-receptor auto-inhibitory mechanism. In: *Frontiers in Catecholamine Research* ed. Ussolin, E., Snyder, S. 579-581. New York Pergamon Press (1973).
- REIFFENSTEIN, R.J.: Effects of cocaine on the rate of contraction to noradrenaline in the cat spleen strip: mode of action of cocaine. *Br.J.Pharmacol.* 32, 591-597 (1968).
- REMY, C.M.: Nerfs eyaculateurs. *Jour de l'anatomie et de la physiologie*, 22 (1886).
- ROBINSON, G.A., BUTCHER, R.W. and SUTHERLAND, E.W.: Adenyl cyclase as an adrenergic receptor. *Ann. New York Acad.Sci.* 1939, 703-723 (1967).
- ROSS, E.M., HOWLETT, A.C., FERGUSON, K.M. and GILMAN, A.G.: Reconstitution of hormone-sensitive adenylate cyclase activity with resolved components of the enzyme. *J. Biol.Chem.* 253, 6401-6412 (1978).
- ROTH, R.M., MORGEUROTH, III, V.H. and SALZMAN, P.M.: Tyrosine hydroxylase: Allosteric activation induced by stimulation of central noradrenergic neurons. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.* 289, 327-343 (1975).
- RUFFOLO, Jr., ROBERT, R., YADEN, E.L. and WEDDELL, J.E.: Receptor interactions of imidazoline. V. Clonidine differentiates Postsynaptic alpha adrenergic receptor subtypes in tissues from the rat. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 213, 557-561 (1980).
- SCHEIN, C.R., HONEGMAN, T.W. and FAY, F.S.: Mechanism of beta-adrenergic relaxation of smooth muscle. *Nature* 277, 32-36 (1979).
- SHEYS, E.M. and GREEN, R.D.: A quantitative study of alpha adrenergic receptors in the spleen and aorta of the rabbit. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 130, 317-325 (1972).
- SJOSTRAND, N.O.: The adrenergic innervation of the vas deferens and the accessory male genital gland. *Acta Physiol.Scand.* 65, 257 (1965).

- SKOLNICK, P., DALY, J. and SEGAL, D.: Neurochemical and behavioural effects of clonidine and related imidazolines: Interaction with alpha-adrenoceptors. *Eur.J.Pharmacol.* 47, 451-455 (1978).
- SMITH, A. and WINKLER, H.: Fundamental mechanisms in the release of catecholamines, in: *Catecholamines*, Blaschko, H. and Muscholl, E. eds. *Handbook of Experimental Pharmacology*. Springer, Berlin 33, 538-617 (1972).
- STARKE, K.: Interactions of angiotensin and cocaine on the output of noradrenaline from isolated rabbit hearts. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmac.* 265, 383-386 (1970).
- STARKE, K.: Action of angiotensin on uptake, release and metabolism of  $^{14}\text{C}$ -noradrenaline by isolated rabbit hearts. *Eur. J.Pharmacol.* 24, 112-123 (1971).
- STARKE, K.: Alpha sympathomimetic inhibition of adrenergic and cholinergic transmission in the rabbit heart. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmac.* 274, 18-45 (1972a).
- STARKE, K.: Influence of extracellular noradrenaline on the stimulation evoked secretion of noradrenaline from sympathetic nerves: Evidence for an alpha-receptor mediated feed-back inhibition of noradrenaline release. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmac.* 275, 11-23 (1972b).
- STARKE, K.: Regulation of noradrenaline release by presynaptic receptor systems. *Rev.Physiol.Biochem.Pharmacol.* 77, 1-124 (1977).
- STARKE, K. and ALTMANN, K.P.: Inhibition of adrenergic neurotransmission by clonidine: and action on prejunctional alpha receptors. *Neuropharmacology* 12, 339-347 (1973).
- STARKE, R., BOROWSKI, E. and ENDO, T.: Preferential blockade of presynaptic alpha-adrenoceptors by yohimbine. *Eur.J. Pharmacol.* 34, 385 (1975b).
- STARKE, K., ENDO, T. and TAUBE, H.D.: Relative pre and postsynaptic potencies of alpha-adrenoceptor agonists in the rabbit pulmonary artery. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmac.* 291, 550-718 (1975a).
- STARKE, K. and LANGER, S.Z.: A note on terminology for presynaptic receptors. In: *Presynaptic Receptors*. ed. by S.Z. Langer, K. Starke and M.L. Dubocovich. 1-3, Pergamon Press, Oxford (1979).
- STARKE, K. and MONTEL, H.: Influence of drugs with affinity for alpha-adrenoceptors on noradrenaline release by potassium and tyramine. *Proceeds. Second Meeting on Adrenergic Mechanisms*, Porto 53-54 (1973a).

- STARKE, K., MONTEL, H., GAY, K.W. and MERKER, R.: Comparison of the effects of clonidine on pre- and postsynaptic adrenoceptors in the rabbit pulmonary artery. *Naunyn Schmiedeberg's Arch.Pharmacol.* 285, 133 (1974).
- STARKE, K., MONTEL, M. and SCHUMANN, H.J.: Influence of cocaine and phenoxybenzamine on noradrenaline uptake and release. *Naunyn Schmiedeberg's Arch.Pharmacol.* 270, 210-214 (1971).
- STEINSLAND, O.S., FURCHGOTT, R.F. and KIRPEKAR, S.M.: Inhibition of adrenergic neurotransmission by parasympathomimetics in the rabbit heart artery. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 184, 346-356 (1973).
- STJARNE, L.: Inhibitory effect of prostaglandin  $E_2$  on noradrenaline secretion from sympathetic nerves as a function of external calcium. *Prostaglandins* 3, 105-109 (1973).
- STJARNE, L.: Adrenoceptor mediated positive and negative feedback control of noradrenaline secretion from human vasoconstrictor nerves. *Acta Physiol.Scand.* 95, 18A-19A (1975).
- STJARNE, L.: Differences in secretory excitability between short and long adrenergic neurons: comparison of  $^3H$ -Noradrenaline secretion evoked by field stimulation of guinea-pig vas deferens and human blood vessels. *Acta Physiol.Scand.* 100, 264-266 (1977).
- STJARNE, L. and BRUNDIN, J.: Dual adrenoceptor-mediated control of noradrenaline secretion from human vasoconstrictor nerves: facilitation by beta-receptors and inhibition by alpha-receptors. *Acta Physiol.Scand.* 94, 139 (1975a).
- STJARNE, L. and BRUNDIN, J.: Affinity of noradrenaline and dopamine for neural receptors mediating negative feedback control of noradrenaline secretion in human vasoconstrictor nerves. *Acta Physiol.Scand.* 95, 89 (1975b).
- STJARNE, L. and BRUNDIN, J.: Beta $_2$ -adrenoceptors facilitating noradrenaline secretion from human vasoconstrictor nerves. *Acta Physiol.Scand.* 97, 88-93 (1976).
- STJARNE, L. and BRUNDIN, J.: Frequency-dependence of  $^3H$ -noradrenaline secretion from human vasoconstrictor nerves: Modification by factors interfering with alpha or beta adrenoceptor or prostaglandin  $E_2$  mediated control. *Acta Physiol.Scand.* 101, 199-210 (1977).
- STJARNE, L. and GRIFE, K.: Prostaglandin-dependent and independent feedback control of noradrenaline secretion in vasoconstrictor nerves of normotensive human subjects. A preliminary report. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmacol.* 280, 441-446 (1973).

- STROSBERG, A.D., VAUGHELIN, G., DURIE-TRAUTMAN, O., DELEVIER-KLUTCHKO, C., BOTTARI, S. and ANDRE, C.: Towards the chemical and functional characterization of the beta-adrenergic receptor. *TIPS*, January, 11-14 (1980).
- TANAKA, T. and STARKE, K.: Binding of  $^3\text{H}$ -clonidine to an alpha-adrenoceptor in membranes of guinea pig ileum. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmacol.* 309, 207 (1979).
- TANAKA, T. and STARKE, K.: Antagonist/agonist preferring alpha-adrenoceptors or alpha<sub>1</sub>/alpha<sub>2</sub> adrenoceptors. *Eur.J.Pharmacol.* 63, 191 (1980).
- TAUBE, H.O., BOROWSKI, E., ENDO, T. and STARKE, K.: Enkephalin: a potential modulation of adrenaline release in rat brain. *Eur.J.Pharmacol.* 38, 377-380 (1976).
- TAUBE, H.O., STARKE, K. and BOROWSKI, E.: Presynaptic receptor systems on the noradrenergic neurons of rat brain. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmacol.* 299, 123 (1977).
- TISCHNER, M.: The role of the vasa deferentia and the urethra in the transport of semen in rams. *Acta Agrar.Silvestria Serie Zootechnica* 12, 77-133 (1972).
- TITELER, M., TEDESCO, J.L. and SEEMAN, P.: Selective labeling of pre-synaptic receptors by  $^3\text{H}$ -dopamine,  $^3\text{H}$ -apomorphine and  $^3\text{H}$ -clonidine; labeling of postsynaptic sites by  $^3\text{H}$ -neuroleptics. *Life Sci.* 23, 587-592 (1978).
- TRIGGLE, D.J.: "Adrenergic Receptors".  
*Ann.REv.Pharmac.* 12, 185-196 (1972).
- TRUMBLE, H.G.: The plan of the visceral nerves in the lumbar and sacral outflows of the autonomic nervous system. *Br. J.Surg.* 21, 664-676 (1934).
- VAN ROSSUM, J.M.: Different types of sympathomimetic alpha-receptors. *J.Pharm.Pharmacol.* 17, 202-216 (1965).
- VARMA, D.R. and McCULLOUGH, H.N.: Dissociation of the supersensitivity to norepinephrine caused by cocaine from inhibition of ( $^3\text{H}$ )-norepinephrine uptake in cold-stored smooth muscle. *J.Pharmac.Exp.Ther.* 166, 26-34 (1969).
- VENTURA, W.P., FREUND, H., DAVIS, J. and PAUNUTI, C.: Influence of norepinephrine on the motility of the human vas deferens: a new hypothesis of sperm transport by the vas deferens. *Fertility Sterility* 24, 68-77 (1973).
- VIZI, E.S.: Termination of transmitter release by stimulation of sodium-potassium activated ATPase. *J.Physiol. (Lond.)* 267, 261-280 (1977).

- WEINSTOCK, M., THOA, N.B. and KOPIN, I.J.: Beta-adrenoceptors modulate noradrenaline release from axonal sprouts in cultured rat cervical ganglia. *Eur.J.Pharmacol.* 47, 297 (1978).
- WEMER, J., Van der LUGT, J.C., LANGEN, C.D.J. and MULDER, A.H.: On the capacity of presynaptic alpha receptors to modulate norepinephrine release from slices of rat neocortex and the affinity of some agonists and antagonists for these receptors. *J.Pharm.Exp.Ther.* 211, 445-451 (1979)
- WIKBERG, J.E.S.: Differentiation between pre- and postjunctional alpha-receptors in guinea pig ileum and rabbit aorta. *Acta Physiol.Scand.* 103, 225-239 (1978a).
- WIKBERG, J.E.S.: The pharmacological classification of adrenergic alpha<sub>1</sub> and alpha<sub>2</sub> receptors and their mechanisms of action. *Acta Physiol.Scand. Suppl.* 468, 1-99 (1979)
- WOOTEN, G.F., THOA, N.B., KOPIN, I.J. and AXELROD, J.: Enhanced release of dopamine beta-hydroxylase and norepinephrine from sympathetic nerves by dibutyl adenosine 3'5'-monophosphate and theophylline. *Mol.Pharmac.* 9, 178-183 (1973).
- YAMAGUCHI, N., De CHAMPLAIN, J. and NADEAU, R.A.: Regulation of norepinephrine release from cardiac sympathetic fibers in the dog by presynaptic alpha and beta receptors. *Cir.Res.* 41, 108 (1977).

